

INFORMATION TO USERS

This manuscript has been reproduced from the microfilm master. UMI films the text directly from the original or copy submitted. Thus, some thesis and dissertation copies are in typewriter face, while others may be from any type of computer printer.

The quality of this reproduction is dependent upon the quality of the copy submitted. Broken or indistinct print, colored or poor quality illustrations and photographs, print bleedthrough, substandard margins, and improper alignment can adversely affect reproduction.

In the unlikely event that the author did not send UMI a complete manuscript and there are missing pages, these will be noted. Also, if unauthorized copyright material had to be removed, a note will indicate the deletion.

Oversize materials (e.g., maps, drawings, charts) are reproduced by sectioning the original, beginning at the upper left-hand corner and continuing from left to right in equal sections with small overlaps.

**ProQuest Information and Learning
300 North Zeeb Road, Ann Arbor, MI 48106-1346 USA
800-521-0600**

UMI[®]

Université de Sherbrooke

Imagerie par scintigraphie des récepteurs estrogéniques

Par

Oussama Nachar M.D, M.Sc.

Département de Médecine nucléaire et de Radiobiologie

Thèse présentée à la Faculté de médecine

En vue de l'obtention du grade de Philosophiae Doctor (Ph.D.)

Sherbrooke, Septembre 2000



**National Library
of Canada**

**Acquisitions and
Bibliographic Services**

**385 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada**

**Bibliothèque nationale
du Canada**

**Acquisitions et
services bibliographiques**

**385, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada**

Your file Votre référence

Our file Notre référence

The author has granted a non-exclusive licence allowing the National Library of Canada to reproduce, loan, distribute or sell copies of this thesis in microform, paper or electronic formats.

The author retains ownership of the copyright in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque nationale du Canada de reproduire, prêter, distribuer ou vendre des copies de cette thèse sous la forme de microfiche/film, de reproduction sur papier ou sur format électronique.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur qui protège cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

0-612-74263-6

Canada

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES PUBLICATIONS	v
RÉSUMÉ	vi
I- INTRODUCTION.....	1
1. Aspect médical du cancer du sein.....	1
1.1. Épidémiologie.....	1
1.2. Prévention primaire	1
1.3. Génétique.....	2
1.4. Prévention secondaire.....	2
1.5. Diagnostic, traitement et pronostic	2
1.6. Chimio-prévention au Tamoxifene™	3
2. Estrogènes et récepteurs estrogéniques	4
2.1. Estrogènes	4
2.2. Récepteurs de l'estrogène.....	8
2.3. Modulateurs sélectifs des récepteurs d'estrogènes.....	16
3. Imagerie du cancer du sein	20
3.1. Médecine nucléaire et cancer du sein.....	20
3.2. Thallium 201	21
3.3. [^{99m} Tc]-MDP.....	21
3.4. [^{99m} Tc]-Sestamibi.....	22
3.5. [¹⁸ F]-FDG.....	23
3.6. Les anticorps monoclonaux	23
3.7. Imagerie des récepteurs de l'estrogène.....	23
4. Historique du développement des dérivés marqués de l'estrogène pour l'imagerie des récepteurs estrogéniques.....	25

5. Application clinique des estrogènes marqués pour l'imagerie des récepteurs estrogéniques tumoraux dans le cancer du sein.....	35
5.1. Les dérivés estradiol marqués en 16 α	36
5.1.1. Le 16 α -[¹²³ I]iodoestradiol.....	36
5.1.2. Le 16 α -[¹⁸ F]fluoroestradiol	39
5.1.3. Le 16 α -[¹⁸ F]fluoromoxestrol	42
5.2. Les dérivés iodovinyls estradiols	42
5.2.1. Le [¹²³ I]-iodovinylestradiol	42
5.3. Le fluoro tamoxifène	43
5.4. Considérations cliniques	44
5.5. Imagerie des récepteurs de la progestérone	45

II- ARTICLE 1.

Étude de la biodistribution et de la dosimétrie du 11 β -methoxy-(17 α ,20Z)-[¹²³I]iodovinylestradiol (MIVE) chez des sujets sains et des patientes atteintes d'un cancer du sein

Résumé de l'article	49
Article N°1	50 (bis)

Biodistribution, dosimetry and metabolism of 11 β -methoxy-(17 α ,20Z)-[¹²³I]iodovinylestradiol (MIVE) in healthy women and breast cancer patients.

III. ARTICLE 2.

La mammoscintigraphie au 11 β -methoxy-(17 α ,20Z)-[¹²³I]iodovinylestradiol (MIVE) comme examen complémentaire au [^{99m}Tc]-MIBI pour la caractérisation des tumeurs mammaires.

Résumé de l'article	51
---------------------------	----

Article N°2.....	52 (bis)
<i>Scintimammography with 11β-Methoxy-(17α,20Z)-</i>	
<i>[¹²³I]Iodovinylestradiol (MIVE): A Complementary Role to ^{99m}Tc-</i>	
<i>MIBI in the characterization of Breast Tumors.</i>	
IV. ARTICLE 3.	
Rôle des récepteurs d'estrogène dans la captation cérébrale du 11β-	
Methoxy-(17α,20Z/E)-[I-125/I-123]Iodovinylestradiol (MIVE)	
Résumé de l'article	53
Article N°3	54 (bis)
<i>Is 11β-Methoxy-(17α,20Z/E)-[I-123/125] Iodovinylestradiol (MIVE)</i>	
<i>brain-uptake estrogen receptor mediated?</i>	
V. DISCUSSION ET CONCLUSION	55
VI. REMERCIEMENTS	73
VII. RÉFÉRENCES.....	74

LISTE DES PUBLICATIONS

Biodistribution, dosimetry and metabolism of 11 β -Methoxy-(17 α ,20E/ \underline{Z})-[¹²³I]iodovinylestradiol (MIVE) in healthy women and breast cancer patients.

O. Nachar, J. Rousseau, B. Lefebvre, R. Ouellet, H Ali, and J.E. van Lier.

J. Nucl. Med. 40, 1728-1736, 1999.

Scintimammography with 11 β -Methoxy-(17 α ,20 \underline{Z})-[¹²³I]iodovinylestradiol (MIVE): A Complementary Role to ^{99m}Tc-MIBI in the Characterization of Breast Tumors

O. Nachar, J. Rousseau, R. Ouellet, A. Rioux*, B. Lefebvre, H. Ali, and J.E. van Lier.

J. Nucl. Med. August. 2000.

Is 11 β -Methoxy-(17 α ,20 \underline{Z})-[¹²³I/ ¹²⁵I]iodovinylestradiol (MIVE) brain uptake receptor-mediated?

**O. Nachar, J. Rousseau, R. Ouellet, E. Croteau, H. Ali. B. Lefebvre and J.E. van Lier,
(*Manuscrit*)**

RÉSUMÉ

Au cours de la dernière décennie, la médecine nucléaire a profité d'un important apport scientifique et technologique. Il est aujourd'hui possible de réaliser des scintigraphies planaires et tridimensionnelles de très haute qualité. Toutefois, le nombre d'agents radiopharmaceutiques spécifiques à l'imagerie tumorale reste limité.

Une approche prometteuse pour cibler les tumeurs est d'exploiter la présence des récepteurs hormonaux que l'on retrouve dans certains cancers. C'est le cas pour le cancer du sein, où une proportion importante des tumeurs possède des récepteurs pour l'estrogène (tumeurs RO+). Pour tirer avantage de cette situation, plusieurs hormones synthétiques marquées, ayant une affinité supérieure pour les récepteurs estrogéniques à celle de l'œstradiol, ont été préparées.

La confirmation de la présence ou de l'absence de récepteurs estrogéniques dans les cancers du sein est une étape importante dans le choix du traitement approprié et pour le pronostic de la maladie. Actuellement, cette détermination se fait *in vitro* à partir d'une biopsie. Le dosage *in vitro* par biopsie, des récepteurs RO+ est une méthode spécifique quoique susceptible aux variations inhérentes à l'hétérogénéité de la distribution et de fonctionnalité des récepteurs RO+ à l'intérieur d'une même tumeur. De plus, la biopsie ne nous renseigne pas sur les modifications que les récepteurs peuvent subir au cours de l'évolution de la maladie ou lors du prélèvement et de la manipulation des spécimens. C'est sans doute à cause de ces limitations qu'un bon nombre de patientes qui sont classées RO+ à la biopsie ne répondent pas favorablement à la thérapie anti-hormonale. Pour les mêmes raisons, il est vraisemblable que certaines patientes qui pourraient bénéficier de la thérapie hormonale soient classées RO-. La scintigraphie spécifique des récepteurs RO+, en conjonction avec les techniques conventionnelles d'imagerie des tumeurs comme le Thallium-201 ou le ^{99m}Tc -MIBI, fournirait donc au clinicien une image plus complète de la situation clinique et aurait un impact positif sur le traitement.

La présente étude porte sur deux isomères d'un estrogène synthétique préparés dans nos laboratoires, le 11 β -methoxy-(17 α ,20E/Z)-[¹²³I]iodovinylestradiol (MIVE). Nous avons étudié la biodistribution des deux isomères chez des sujets sains et déterminé leur dosimétrie. Puis, nous avons étudié chez des patientes atteintes de cancer du sein la corrélation entre l'accumulation du (20Z)MIVE dans les tumeurs et la présence de récepteurs estrogéniques, tel que déterminé *in vitro* par méthode immunologique. Nous avons également étudié la relation entre la fixation du MIVE dans les tumeurs du sein et celle du [^{99m}Tc]MIBI, un agent couramment utilisé en médecine nucléaire pour confirmer la présence de cancer et évaluer son agressivité. Finalement, nous nous sommes intéressés à l'imagerie des récepteurs estrogéniques cérébraux, car plusieurs essais cliniques indiquent une relation entre la maladie d'Alzheimer et l'action des estrogènes au niveau du cerveau.

Ces travaux nous ont permis d'établir que la dose de radiation reçue après administration intraveineuse d'une dose diagnostique (5–10 mCi) de (20E) ou (20Z)-[¹²³I]MIVE est dans les limites acceptables. Nous avons aussi démontré qu'il existe une bonne corrélation entre la captation tumorale du (20Z)-[¹²³I]MIVE et la présence de récepteurs estrogéniques chez des patientes atteintes d'un cancer du sein. L'étude comparative de la captation du (20Z)-[¹²³I]MIVE avec le ^{99m}Tc-MIBI confirme que la détermination des récepteurs tumoraux par le (20Z)-[¹²³I]MIVE ajoute une information complémentaire et unique à l'examen scintigraphique au ^{99m}Tc-MIBI qui contribue à mieux caractériser la maladie et, de ce fait, à choisir le traitement le plus approprié. Il a aussi été possible de démontrer, dans un modèle animal, que le marquage des récepteurs estrogéniques cérébraux était possible, ce qui laisse envisager que l'imagerie scintigraphique des récepteurs estrogéniques cérébraux pourrait s'avérer utile lorsque l'hormonothérapie est considérée comme traitement pour la maladie d'Alzheimer.

I- INTRODUCTION

1. Aspect médical du cancer du sein

1.1 Épidémiologie. Le cancer du sein est le cancer le plus fréquemment diagnostiqué chez la femme, au Canada et dans la majorité des pays développés. Le cancer du sein est la deuxième cause de mortalité par cancer, après le cancer du poumon chez la femme. On estime qu'en 1999, environ 18,700 cas seront diagnostiqués et que 5,400 femmes mourront de cette maladie (1). Depuis 1984, le taux d'incidence du cancer du sein croît de façon constante. Cependant, le taux de mortalité demeure relativement stable grâce à l'amélioration des méthodes de dépistage et de traitement.

1.2 Prévention primaire. Une Canadienne sur neuf sera, à un moment ou à un autre de sa vie, diagnostiquée d'un cancer du sein et une sur vingt-cinq en mourra. Au nombre des facteurs de risque figurent l'âge, les antécédents familiaux ou personnels de cancer du sein, l'expérience antérieure de certains types de maladie bénigne du sein, les antécédents de radio-exposition du thorax, un début précoce des menstruations et une ménopause tardive. D'autres facteurs démographiques et environnementaux peuvent augmenter le risque de cancer du sein : la vie en milieu urbain, une classe socio-économique supérieure et le fait d'être née en Amérique du Nord ou dans le nord de l'Europe (2). En somme, une augmentation de la durée d'exposition aux œstrogènes endogènes ou exogènes (xénestrogènes) semble être le dénominateur commun de la grande majorité des facteurs de risque. La plupart de ces facteurs de risque établis ne sont pas modifiables, ce qui rend difficile toute mesure de prévention primaire (3). Récemment, des études cliniques de chimioprévention par le tamoxifène ont montré que ce produit réduisait de 50% le risque de cancer du sein chez les femmes identifiées à risque élevé (4).

1.3 Génétique. Récemment, la découverte des gènes BRCA1 et BRCA2 sur les chromosomes 17 et 13, respectivement, a résolu en partie l'énigme de l'hérédité dans le cancer du sein. On estime qu'environ 1% des femmes sont porteuses du gène BRCA1 ou BRCA2 et que ces gènes seraient responsables de 3 à 8% de tous les cancers du sein (5). Si le gène BRCA1 ou BRCA2 est détecté chez une patiente, son risque de souffrir d'un cancer au cours de sa vie peut grimper d'environ 11% à quelque part entre 50 et 85% (6). On dispose de peu de données sur l'efficacité des stratégies de prévention à l'intention des personnes à haut risque. D'autres études devraient être effectuées avant que des épreuves systématiques de détection des gènes BRCA1 ou BRCA2 soient préconisées.

1.4 Prévention secondaire. Le cancer du sein est d'origine multifactorielle, ce qui rend sa prévention primaire difficile. La meilleure stratégie est d'essayer de diminuer le taux de mortalité par une détection et une caractérisation précoce. La mammographie est actuellement la seule méthode disponible pour le dépistage. De nombreuses études démontrent clairement que le dépistage mammographique, effectué régulièrement, peut réduire d'environ 30% la mortalité par cancer du sein chez les femmes de 50 à 69 ans (7).

1.5 Diagnostic, traitement et pronostic. Après un examen médical anormal ou une mammographie suspecte, la patiente est en général référée afin de poursuivre l'investigation. Le diagnostic final est posé après une biopsie de la lésion en question. Une fois le diagnostic de cancer établi, la patiente doit choisir une thérapie avec son équipe traitante. En général, le traitement est constitué d'une chirurgie, de radiothérapie et/ou thérapie systémique, notamment la chimiothérapie et le traitement endocrinien. Après la chirurgie, plusieurs paramètres pathologiques sont considérés afin de choisir la combinaison thérapeutique optimale : chimiothérapie, traitement endocrinien ou les deux. De plus, ces facteurs pathologiques permettent d'établir le pronostic. Il a été établi que les tumeurs pauvrement différenciées (anaplasiques) et celles qui

envahissent les espaces vasculaires et lymphatiques ("Lymphatic and Vascular Invasion : LVI") ont un pronostic défavorable. Le taux de survie des tumeurs possédant des récepteurs estrogéniques (RE+) est meilleur comparé à celui des cancers RE négatifs. Il existe de nouveaux paramètres pronostiques parmi lesquels on retrouve la fraction dans la phase-S ("S-phase fraction") et le Ki67 qui reflète le pourcentage des cellules tumorales dans les phases S, G2 et M, respectivement. L'élévation de l'un de ces deux paramètres est un signe d'un mauvais pronostic. Finalement, le taux de survie est plus bas chez les patientes dont la tumeur démontre une surexpression du HER-2 neu oncogène (8).

Les facteurs les plus importants sont les suivants : l'état des ganglions axillaires qui démontre une relation directe entre la survie et le nombre de ganglions atteints et la taille tumorale qui est directement proportionnelle à la probabilité de développer des métastases. En effet, une patiente ayant un cancer du sein, sans extension ganglionnaire dont la taille tumorale est inférieure à 1 cm, a une probabilité de récurrence de 12%, tandis que celle dont la taille se situe entre 2.1 et 5 cm, a 69% de probabilité de récurrence sur une période de 20 ans (9,10). En général, toutes les patientes ayant des métastases ganglionnaires reçoivent une chimiothérapie, mais si les ganglions ne sont pas atteints, une combinaison des autres facteurs pronostiques (grande taille tumorale, grade indifférencié, présence de LVI, négativité des RE et l'élévation des marqueurs de prolifération) aident l'équipe traitante à prendre une décision quant au traitement systémique. Le régime de radiothérapie le plus souvent employé est 50 Grey en 25 fractions (200 cGrey/jour). En ce qui concerne la chimiothérapie, celle-ci est généralement donnée après la chirurgie.

1.6 Chimio-prévention au tamoxifène. La réduction significative de la récurrence dans le sein contralatéral, avec le tamoxifène comme traitement adjuvant, a amené les chercheurs à explorer les effets de cet agent dans la prévention primaire. Les résultats de trois études cliniques de chimioprévention primaire par le tamoxifène ont été publiés récemment. La National Surgical

Adjuvant Breast and Bowel Project (NSABBP) (P-1) Study, avec 13,388 femmes distribuées aléatoirement dans un groupe placebo ou tamoxifène sur une période de 5 ans, a montré que le tamoxifène réduisait d'environ 50 % le risque de cancer du sein chez les femmes identifiées comme à risque élevé. Plus récemment, les résultats de l'étude multi-centrique aléatoire "MORE" (The Multiple Outcomes of Raloxifen Evaluation), portant sur l'effet du raloxifène sur le risque du cancer du sein chez la femme ménopausée, ont été publiés. Cette étude avec 7705 femmes ménopausées, souffrant d'ostéoporose, a montré une diminution de 76% du risque de développer un cancer du sein chez les patientes avec raloxifène et cette diminution du risque est encore plus remarquable pour les cancers du sein avec récepteurs positifs (diminution de 90 %) (11). Cependant, d'autres études s'imposent avant que l'on recommande cette méthode de chimio-prévention.

2. Estrogènes et récepteurs estrogéniques

2.1 Estrogènes Les estrogènes sont une famille d'hormones stéroïdiennes à 18 carbones, caractérisées par la présence d'un anneau aromatique A et l'absence du groupe méthyle à la position 10.

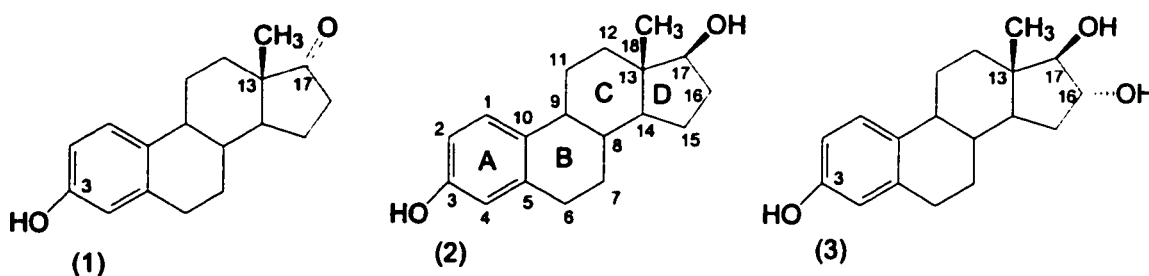


Figure1. Famille de l'estradiol : (1) Estrone, (2) 17β-Estradiol, (3) Estriol.

Les trois formes classiques d'estrogènes sont l'estrone (E1), l'estradiol (E2) et l'estriol (E3) (Figure 1). Ces trois formes sont différentes par le nombre de groupes hydroxyles qu'elles contiennent. En effet, l'estradiol, la forme la plus active et la plus prépondérante possède deux groupes hydroxyles en positions 3

et 17. L'estriol, qui contient trois groupes hydroxyles en positions 3,16 et 17, est la forme la moins puissante et la moins répandue, sauf chez la femme enceinte, où elle devient la forme principale. Finalement, l'estrone qui est la forme la plus répandue après la ménopause, est de puissance intermédiaire et possède un seul groupe hydroxyle en position 3.

Chez la femme pré-ménopausée, Le 17β -estradiol produit par les ovaires est la forme circulante principale. Les concentrations sériques de l'estradiol passent d'un niveau très bas avant la ménarche à des concentrations considérables chez la femme adulte. A titre d'exemple, les concentrations sériques sont de l'ordre de 100 pg par millilitre (367 pmol par litre) dans la phase folliculaire, et de 600 pg par millilitre (2200 pmol par litre) à l'ovulation. Cependant, après la ménopause, les concentrations sériques de l'estradiol tombent à des niveaux très bas pour devenir similaires à ceux de l'homme, c'est-à-dire environ 5 à 20 pg par millilitre (18 à 74 pmol par litre). Une petite quantité d'œstrogène circule dans le sang sous une forme libre, tandis que la grande majorité est liée aux protéines plasmatiques et, plus particulièrement, l'albumine et le SHBG (sex Hormone Binding Protein). (12)

L'estrogène est l'hormone clé du système reproducteur féminin. Elle joue aussi un rôle très important dans plusieurs autres systèmes. En effet, parmi ceux-là, on retrouve le système musculo-squelettique (diminue la résorption osseuse), le système cardio-vasculaire (effet direct sur la fonction endothéliale et métabolisme des lipides), le système hématologique (effet sur la coagulation et la fibrinolyse) ainsi que le système antioxydant. Cette hormone agit principalement via des récepteurs et possiblement en stimulant l'expression de proto-oncogènes (AP-1), en se liant à des sites spécifiques de l'acide déoxyribonucléique (ADN). L'estrogène entreprend un métabolisme extensif largement oxydatif, via l'action des enzymes du cytochrome P450. De plus, cette hormone peut subir une conjugaison avec l'acide glucoronique ou par l'ajout de sulfate.

Parmi les rôles physiologiques de l'œstrogène, on retrouve la prolifération, la maturation et la différenciation du tissu mammaire. En effet, l'estradiol stimule la multiplication des cellules épithéliales recouvrant les cavités glandulaires ou acinaires, et les canaux galactophores. L'hormone modifie la croissance cellulaire en se liant au récepteur des œstrogènes. Les complexes constitués par l'hormone et son récepteur se lient à l'ADN dans le noyau, et activent des gènes qui commandent la division cellulaire. Cependant, en accélérant la vitesse de réplication de l'ADN, cette activation augmente la probabilité qu'une mutation carcinogène se produise et qu'elle ne soit pas réparée. De surcroît, cette même activation peut aussi permettre une expansion clonale de cellules préneoplasiques. Ces phénomènes sont classés comme effets carcinogènes non-génotoxiques. Les œstrogènes sont aussi responsables de dommages affligés directement à l'ADN par l'intermédiaire de métabolites actifs, tels que les catécholestrogènes, quinones et semiquinones. Ces dommages consistent en des bris de brins simples ou doubles, ainsi que des pontages de l'ADN qualifiés d'effets génotoxiques. En somme, l'estradiol et ses métabolites agissent comme un carcinogène complet (initiateur et promoteur) par des effets génotoxiques directs et indirects ainsi que par des effets non-génotoxiques.

Le métabolisme oxydatif de l'estradiol donne naissance à deux métabolites importants: le 16 α -hydroxyestrone et le 2- hydroxyestrone. Les deux métabolites, dont l'activité diffère notablement, ne sont pas produits simultanément, de sorte que le rapport de leurs concentrations change. Il existe des évidences que le 16 α -hydroxyestrone serait un "mauvais œstrogène", car il se lierait de façon covalente aux récepteurs estrogéniques (RE), favoriserait une expression prolongée des gènes qui déclenchent la croissance, induirait une hyperprolifération cellulaire et endommagerait l'ADN. (13) De surcroît, d'après divers travaux réalisés sur l'animal et quelques essais chez l'humain, la concentration en 16 α -hydroxyestrone et le rapport des concentrations du 16 α -hydroxyestrone sur 2- hydroxyestrone sont élevés en cas de cancer du sein. Le 4-hydroxyestradiol est un autre métabolite avec des effets néfastes, car il

posséderait une activité œstrogénique équivalente à l'œstradiol, mais sa liaison au RE serait de plus longue durée. En revanche, le 2- hydroxyestrone activerait peu les récepteurs des œstrogènes et serait un "bon œstrogène".

Ainsi, dans une lignée de souris qui développent des tumeurs mammaires spontanément, la concentration du 16 α -hydroxyestrone est quatre fois supérieure à la concentration mesurée chez des souches résistantes normalement à ce cancer. De même, une étude portant sur des femmes ayant un cancer du sein, a révélé que le tissu mammaire de ces femmes contenait près de cinq fois plus de 16 α -hydroxyestrone que le tissu des femmes saines.(13 – 15)

Outre les œstrogènes endogènes, les xénœstrogènes sont des substances chimiques qui ne sont pas fabriquées par l'organisme et qui possèdent une activité œstrogéniques. Les xénœstrogènes issus de l'environnement reproduisent l'action des hormones endogènes ou en modifient l'activité. Certains diminuent les effets des œstrogènes; ils proviennent souvent des produits alimentaires d'origine végétale, tels les aliments à base de soja, les choux-fleurs ou brocolis, et sont rapidement dégradés dans l'organisme. D'autres, qui sont souvent synthétiques, imitent ou potentialisent les effets des œstrogènes endogènes. Ces variétés amplificatrices que l'on retrouve dans certains pesticides (méthoxychlore), dans des ingrédients du plastic (bisphénol A), dans les carburants ou dans certains médicaments, sont de plus en plus abondantes et des évidences supportent leurs rôles dans l'étiologie du cancer du sein (13)

Certains xénœstrogènes favoriseraient le cancer en augmentant la production des "mauvais œstrogènes". D'autres se lieraient directement aux récepteurs des œstrogènes, déclenchant ainsi la production de signaux de prolifération inappropriés. D'autres composés, enfin, causeraient des dommages directs à l'ADN et favoriseraient la néo-angiogénèse tumorale. L'implication des xénœstrogènes dans l'éthiopathogénèse du cancer du sein pourrait nous permettre

dans le futur d'envisager de nouveaux moyens de prévention primaire contre ce fléau.

2.2 Récepteurs de l'estrogène. Les récepteurs d'estrogène (Figure 2) font partie de la grande famille des récepteurs nucléaires hormonaux qui comprend les récepteurs d'hormones thyroïdiennes, de l'acide rétinoïque et de la vitamine D. Ce sont des protéines intracellulaires ligands dépendantes qui régularisent la transcription génique. L'action régulatrice classique débute quand l'hormone pénètre passivement la membrane cellulaire et se lie au récepteur. La liaison de l'hormone induit un changement dans la configuration du récepteur. Le complexe actif estrogène-récepteur s'associe intimement à un site spécifique de transcription sur l'acide désoxyribonucléique (ADN) appelé élément de réponse estrogénique (ERE : Estrogen Response Élément) et induit la formation de l'acide ribonucléique (ARN) et la synthèse d'une protéine spécifique. Plusieurs promoteurs sensibles à l'œstrogène ne possédant pas de ERE ont été identifiés; parmi les mécanismes postulés, on retrouve 1) l'activation de gènes ayant les éléments AP-1 avec les protéines fos et jun (16, 17), 2) l'activation de l'expression de gènes possédant les sites de liaison Sp1. (18, 19), 3) l'activation à partir de nouvelles séquences appelées « raloxifene response element » (RRE) (20, 21) et finalement, 4) l'activation de gènes ayant la séquence appelée "antioxydant response element" (ARE) (22, 23).

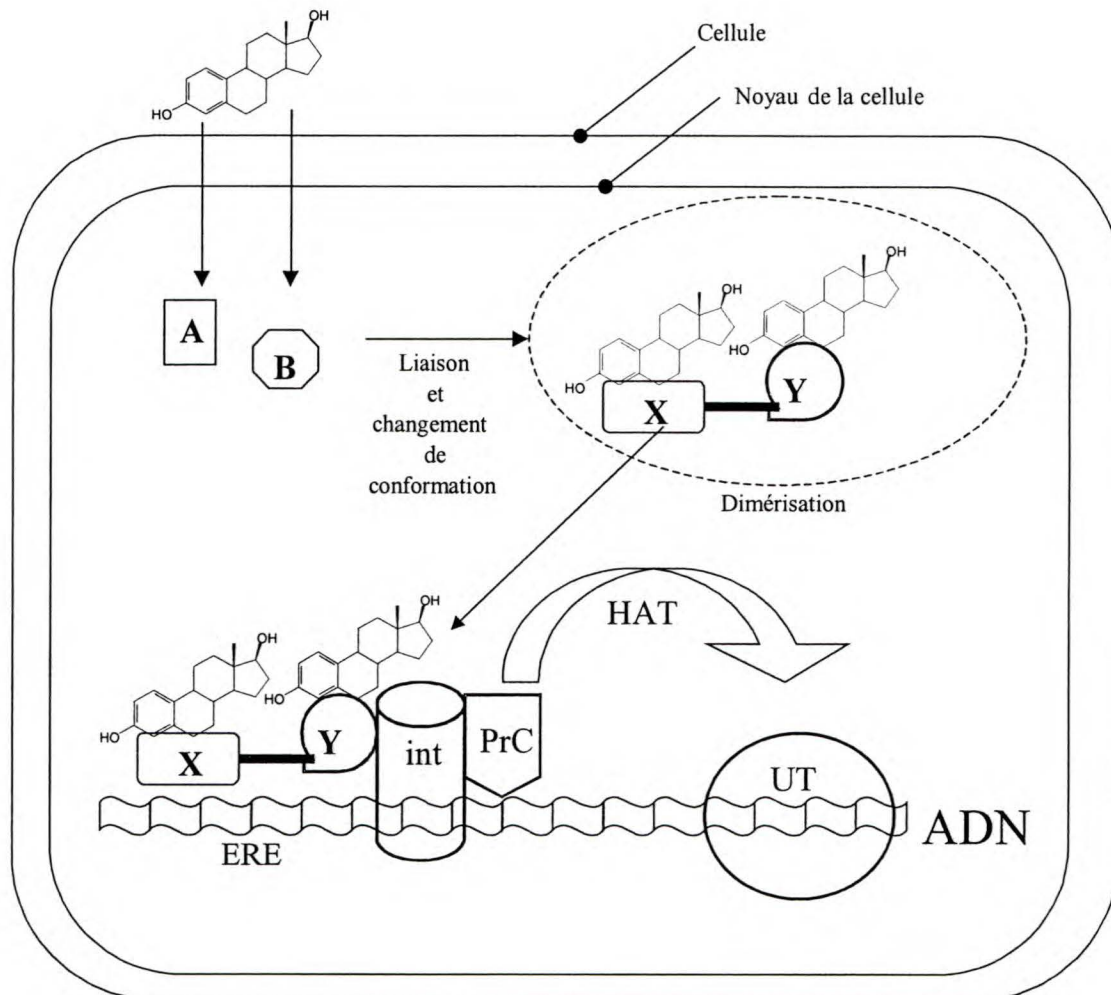


Figure 2. Mécanisme d'activation de l'expression génétique par le complexe estrogène-récepteur. Les estrogènes pénètrent dans les cellules cibles par diffusion passive, puis se lient à des récepteurs cellulaires ayant une haute affinité pour les estrogènes. On distingue deux récepteurs estrogéniques (ER), ER-alpha (A) et ER-bêta (B). Ces récepteurs agissent comme facteurs de transcription, et subissent une modification conformationnelle lors de leur liaison aux estrogènes. Ensuite, les récepteurs alpha et bêta s'associent pour former des dimers (homodimers AA, BB ou hétérodimers AB) et se lient à l'élément de réponse de l'estrogène (ERE) au niveau de leurs gènes cibles. Pour que l'unité de transcription (UT) du gène puisse démarrer, les dimers doivent s'associer à différentes protéines, tels que les facteurs de co-activation (PrC) et de transcription (int). Certaines des protéines associées au complexe estrogène-récepteur possèdent des fonctions enzymatiques, comme c'est le cas pour l'histone acétylase (HAT). Le complexe estrogène-récepteur peut aussi inhiber la transcription de certains gènes en s'associant à des co-répresseurs. (X=A ou B, Y=A ou B). Adapté de Mendelsohn (24).

Récemment, on a découvert aussi l'existence d'autres protéines modulatrices, appelées coactivateurs et corépresseurs, qui s'associent au complexe estrogène-récepteur et agissent en concert avec celui-ci afin de moduler (faciliter ou inhiber) la transcription. Les mécanismes moléculaires, par lesquels ces coactivateurs/corépresseurs agissent, sont encore méconnus. Cependant, la présence de plusieurs sous-types de protéines modulatrices et leur existence sous différentes concentrations dans les tissus peuvent, au moins en partie, expliquer l'action différentielle des œstrogènes sur deux tissus donnés. (25)

En plus de la voie classique activée par un ligand, il a été démontré que le récepteur d'estrogènes peut être activé en l'absence de ligand par des facteurs de croissance ou d'autres agents qui provoquent l'élévation intracellulaire de l'AMP cyclique. (26, 27)

L'activation de la transcription par les récepteurs d'estrogènes est contrôlée par deux régions d'activation distinctes « Transcription Activation Function :TAF » (Figure 3). TAF-1 est localisé dans le domaine N-terminal alors que TAF-2 se retrouve sur le domaine de liaison de l'hormone (HBD). Habituellement, ces deux domaines, TAF-1 et TAF-2, agissent de façon synergique; cependant, ils peuvent aussi fonctionner de manière tout à fait indépendante. De surcroît, l'activité de ces deux domaines TAF-1 et TAF-2 varie selon le promoteur et le type cellulaire, ce qui peut partiellement expliquer la sélectivité tissulaire de quelques ligands des ERs (28, 29). Il a été démontré que l'estradiol agit comme agoniste, indépendamment de l'activateur dominant TAF-1 ou TAF-2. A l'opposé, l'antagoniste pur d'estrogènes Imperial Chemical Industry 182780 (ICI182780), qui inhibe l'activité des deux TAF-1 et TAF-2, bloque complètement la transcription classique des ER. Contrairement aux antagonistes purs, la plupart des antiestrogènes peuvent avoir une action agoniste partielle s'il n'inhibe pas les deux simultanément ou s'ils n'ont pas au moins un effet antagoniste sur le TAF dominant au niveau du tissu en question. A titre d'exemple, le tamoxifène inhibe l'activité du TAF-2 et, par conséquent, agit

comme antagoniste dans tous les tissus où le TAF-2 est l'activateur dominant. Dans le contexte où le TAF-1 est dominant, le tamoxifène démontre une activité agoniste partielle. Ces observations ont mené à l'hypothèse que la capacité d'un modulateur sélectif des récepteurs d'estrogènes (MSRE) de réguler différemment les TAF-1 et TAF-2, confère une sélectivité quant au tissu sur lequel il agit. Cependant, ce modèle est incomplet car le raloxifène, un autre MSRE (30, 31), agit comme un œstrogène au niveau de l'os, alors qu'il est antagoniste aux deux TAF.

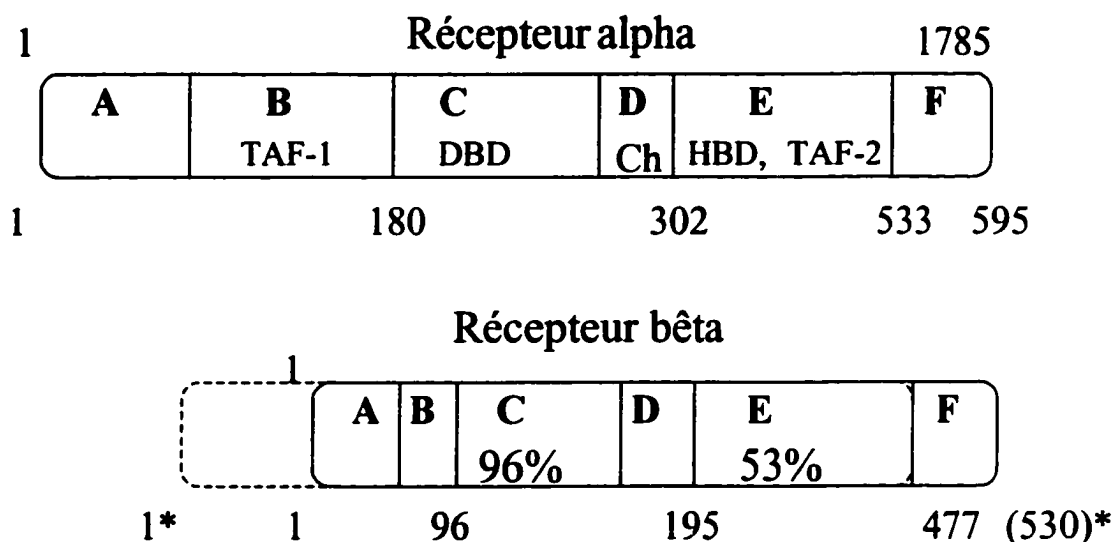


Figure 3. Structures des récepteurs de l'estrogène (ER) alpha et bêta chez l'humain. Les récepteurs d'estrogène, comme ceux des autres stéroïdes, sont divisés en domaines. Les domaines A et B du récepteur contiennent la fonction d'activation de la transcription (TAF-1), cette région est indépendante du ligand. Le domaine de liaison de l'ADN (DBD) contient deux segments zinc, que l'on retrouve dans tous les récepteurs stéroïdiens. Le domaine D est la région charnière (Ch) du récepteur. Le domaine E est le domaine de liaison de l'hormone (HBD), on y retrouve aussi une fonction d'activation de la transcription hormonodépendante (TAF-2). Le domaine F est une région variable, on y retrouve la séquence de l'hélice 12 de la molécule, cette région est possiblement responsable de la différence dans les réponses induites par l'estradiol et certains modulateurs sélectifs des récepteurs de l'estrogène (MSRE). On retrouve plusieurs similitudes entre les récepteurs alpha et bêta, les régions DBD et HBD des deux récepteurs présentent une homologie de 96% et 53% respectivement. Les domaines A et B, par contre, sont uniques à chacun des

récepteurs. Actuellement on compte au moins deux formes de récepteurs bêta (ligne pointillée). Les valeurs numériques au-dessus et au-dessous des schémas de récepteurs représentent le nombre de nucléotides et d'acides aminés respectivement. L'astérisque représente la séquence de 530 acides aminés qui résulterait de l'utilisation du site de transcription alternatif du récepteur bêta. Adapté de Mendelsohn (24).

Le récepteur d'estrogènes contient normalement huit exons qui codent la transcription. Des variantes contenant moins de huit exons ont été isolées (32 – 39). Une variante de récepteurs estrogéniques manquant l'exon 5 (encodé pour le domaine de liaison de l'hormone) a été identifiée sur des cancers du sein dépourvus de récepteurs estrogéniques et possédant des récepteurs de progestérone (32). La variante dépourvue de l'exon 7 a été isolée dans les tumeurs du sein ne contenant ni des récepteurs d'estrogènes ou de progestérone. Ces variantes de récepteurs estrogéniques sont habituellement présentes simultanément avec des récepteurs d'estrogènes proprement dit, aussi bien dans les tumeurs que dans les tissus normaux. La présence de ces variantes peut donc interférer avec la fonction des récepteurs estrogéniques normaux, soit en formant des hétérodimères inactifs, soit en se liant de façon aberrante à des sites de transcription, tels que le ERE (33, 40 - 44).

Avant 1995, on pensait qu'un récepteur d'estrogènes unique était responsable de toutes les actions biologiques des estrogènes et des antiestrogènes. Cependant, un second récepteur d'estrogènes bêta (ER bêta), distinct du récepteur d'estrogènes original ER alpha, a été découvert. Ces deux isoformes, ER alpha et ER bêta, présentent une grande similitude. En effet, le domaine de liaison de l'ADN (DBD: DNA binding domain) présente une homologie de 96% et le domaine de liaison de l'estrogène (EBD: estrogen binding domain) démontre 53% d'homologie. Malgré leurs similitudes, les ER alpha et ER bêta sont distincts sur les plans structurel et fonctionnel (figure 3). En effet, les domaines amino-terminaux A-B qui contiennent le TAF-1 sont différents. Cette distinction serait la base de plusieurs différences dans la fonction des deux sous-types de récepteurs (24).

Le rôle physiologique spécifique au ER bêta n'a pas encore été complètement élucidé, mais son identification pourrait permettre une explication plausible (potentielle) à l'action biologique des estrogènes et des antiestrogènes dans des tissus classés ER négatifs, selon des essais immunoréactifs pour le ER alpha. La présence du ER bêta pourrait être aussi à l'origine de l'action tissulaire sélective de quelques antiestrogènes, tel que le tamoxifène (antagoniste des estrogènes au niveau des seins mais agoniste au niveau de l'os et l'utérus).

Récemment, l'équipe de McDonnell (45) a découvert que le ER bêta possède lui aussi un domaine TAF-2 fonctionnel. Cependant, ce domaine (TAF-2), contrairement à son homologue sur le ER alpha, opère de façon indépendante. De plus, la même équipe a remarqué que sur sa portion amino-terminal A-B, le ER bêta ne possède pas un domaine TAF-1 aussi puissant que celui retrouvé sur le ER alpha, mais il contiendrait un domaine répresseur de la transcription. Finalement, leurs essais ont révélé deux résultats forts intéressants: 1) un rôle inhibiteur du ER bêta sur l'activité transcriptionnelle du ER alpha à des concentrations physiologiques d'estrogène. 2) Le ER bêta diminue la sensibilité cellulaire globale à l'estradiol et que l'activité agoniste partielle que le tamoxifène exerce sur le ER alpha a été complètement abolie suite à la coexpression du ER bêta. Leurs distributions au niveau de l'organisme et leurs proportions respectives n'ont pas encore été complètement élucidées, mais ces deux paramètres seraient primordiaux afin de prédire l'effet d'un ligand sur un tissu donné. Le ER alpha se retrouve virtuellement dans tous les tissus de l'organisme, tandis que le ER-bêta a été identifié jusqu'à présent dans plusieurs tissus, dont le sein, la prostate, l'utérus, les ovaires, les testicules, la vessie, les poumons, l'endothélium vasculaire, le myocarde ainsi qu'au niveau du cerveau (46 – 50).

En particulier, les reins contiennent exclusivement des ER alpha, tandis que l'on retrouve au niveau du cerveau une proportion importante de ER bêta. Cela

suggère que le ER bêta jouerait un rôle important sinon primordial au niveau cérébral (47). Finalement, la présence des deux types de récepteurs ER-alpha et ER-bêta a été démontrée au niveau des tumeurs mammaires (51 - 56).

Il a été rapporté que les ERs alpha et bêta avaient une affinité similaire pour l'estradiol (K_d entre 0.1 et 1 nM, valeurs généralement rapportées pour la liaison de l'estradiol aux ERs dans différents systèmes). Les auteurs ont remarqué que quelques ligands synthétiques présentaient une affinité relative différente pour le ER alpha vs le ER bêta (ie: moxestrol, 11 β -methoxy) (Table 1). Cette différence, quoique peu significative, peut ouvrir des portes quant à la synthèse d'un ligand possédant une sélectivité préférentielle pour l'un des ER alpha ou bien bêta. Cependant, la grande majorité des ligands étudiés se liaient avec des affinités similaires aux deux isoformes (47).

Table 1. Affinité de différents composés les récepteurs α et β de l'oestradiol.

Composé	RBA		K_i	
	RE α	RE β	RE α	RE β
Oestradiol	100	100	0.13	0.12
Diethylstilbestrol	468	295	0.04	0.05
Hexestrol	302	234	0.05	0.06
Dienestrol	223	404	0.05	0.03
Oestrone	60	37	0.3	0.4
17 α -oestradiol	58	11	0.2	1.2
Moxestrol	49	5	0.5	2.6
Oestriol	14	21	1.4	0.7
4-OH-Oestradiol	13	7	1	1.9
2-OH-Oestradiol	7	11	2.5	1.3
Oestrone-3-sulfate	<1	<1	-	-
4-OH-Tamoxifene	178	399	0.1	0.04
ICI-164384	85	166	0.2	0.08
Nafoxidine	44	16	0.3	1.2
Clomifene	25	12	0.9	2.5
Tamoxifene	7	6	3.4	0.9
5-Androstenediol	6	17	3.6	2
3 β -Androstenediol	3	7	6	19
4-Androstenediol	0.5	0.6	23	48
3 α -Androstenediol	0.07	0.3	260	73
5 α -Dihydroxytestosterone	0.05	0.17	221	163
Dehydroepiandrosterone	0.04	0.07	245	53
19-Nortestosterone	0.01	0.23	765	-
5 α -Androstanedione	<0.01	<0.01	-	-
Testosterone	<0.01	<0.01	-	-
5 β -Androstanedione	<0.01	<0.01	-	-
4-Androstenedione	<0.01	<0.01	-	-
Coumestrol	94	185	0.14	0.07
Genistein	5	36	2.6	0.3
β -Zearlanol	16	14	0.8	0.9
Bisphenol A	.05	0.38	195	35
Methoxychlor	.01	0.13	1774	90
Norethindrone	.07	0.01	152	1084
Norethinodrel	0.7	0.22	14	83
Progesterone	<0.001	<0.001	-	-
Corticosterone	<0.001	<0.001	-	-
β -Sitosterol	<0.001	<0.001	-	-

Reproduit de Kuiper 1997 (47)

Aucune étude n'a été effectuée pour le MIVE, mais d'après la similarité avec l'estradiol, la différence d'affinité pour les deux sous-types de récepteurs serait non significative.

En plus de former des homodimers (dimer former de deux ER-alpha ou deux ER-bêta), les ER-alpha et ER-bêta peuvent aussi former des hétérodimers (dimer forme d'un ER-alpha et un ER-bêta) (57), ce qui rend plus complexe la régulation estrogénique de l'expression génique et augmente le degré de difficulté à la compréhension des mécanismes d'action des estrogènes, surtout au niveau des tissus exprimant les deux isoformes. En somme, l'impact du ER bêta sur la biologie des œstrogènes serait vraisemblablement secondaire, non seulement à l'action directe de celui-ci sur la régulation de la transcription de gènes cibles, mais aussi à son action indirecte sur la modulation de l'activité du ER alpha au niveau des tissus coexprimant les deux sous-types de récepteurs.

2.3 Modulateurs sélectifs des récepteurs d'estrogènes (MSRE). Le tamoxifène est le premier antiestrogène efficace qui a été communément utilisé en clinique dans le cadre d'une thérapie hormonale adjuvante aux femmes atteintes du cancer du sein. Dans sa publication en 1992, Love et al (58) a rapporté que le tamoxifène avait un effet protecteur contre l'ostéoporose et il a nommé cet effet : "le paradoxe du tamoxifène". De surcroît, on a découvert que les patientes recevant le tamoxifène présentaient une hyperplasie endométriale et un risque élevé pour le cancer de l'endomètre. Ces observations, ainsi que d'autres études, ont mené à la conclusion que le tamoxifène possédait non seulement des effets antagonistes, mais aussi des effets agonistes partiels, selon le contexte tissulaire, (28,30,62) (agonistes aux niveaux de l'os et le système cardiovasculaire, agoniste partiel au niveau de l'endomètre par opposition à son effet désiré d'antagoniste au niveau du tissu mammaire). De plus, d'autres études ont révélé que le tamoxifène représentait un prototype d'une famille de ligands appelés modulateurs sélectifs des récepteurs d'estrogènes (MSRE).

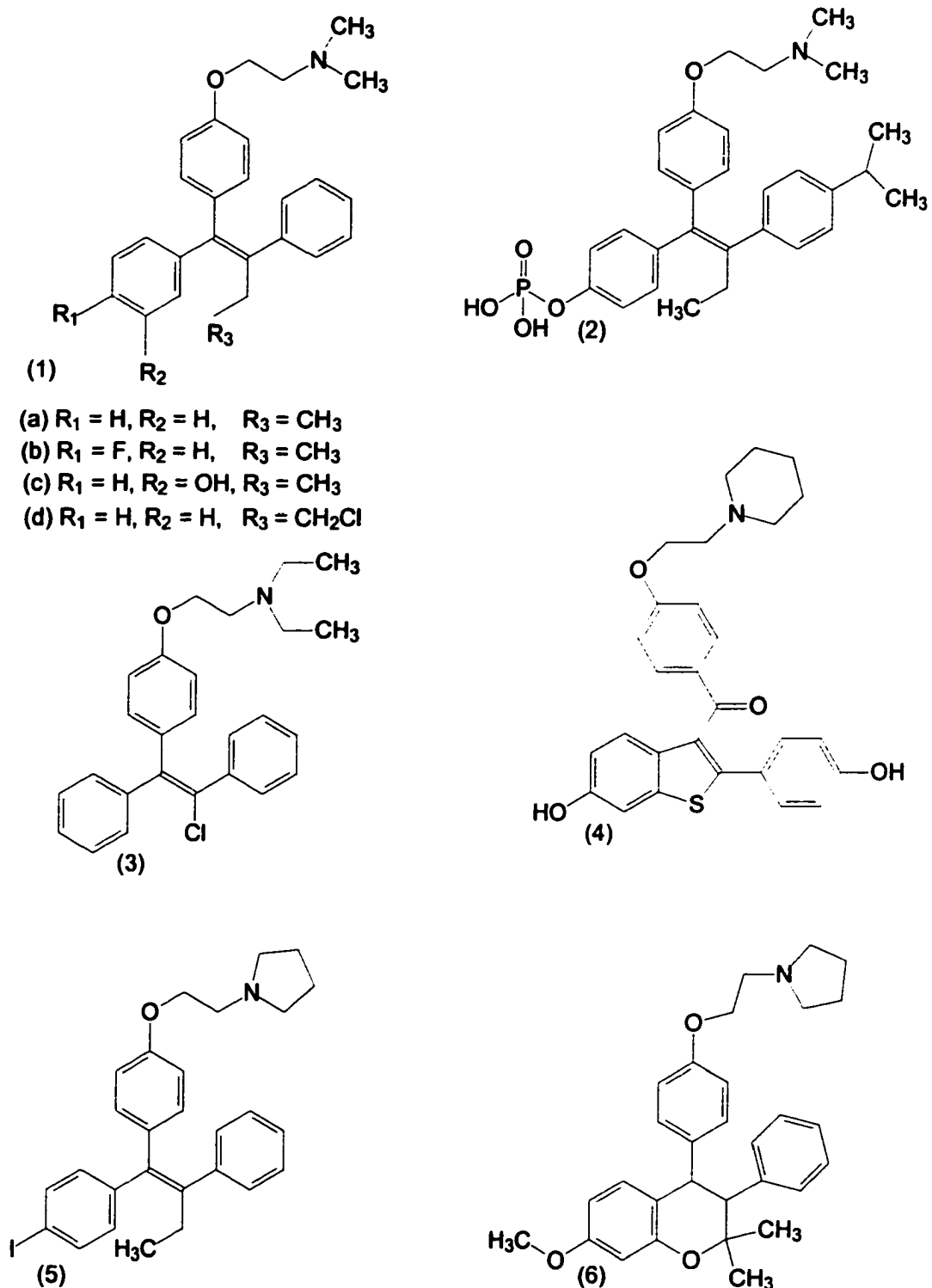


Figure 3. Famille du tamoxifène. (1a) Tamoxifène, (1b) Fluorotamoxifène, (1c) Droloxifène, (1d) Toremifène, (2) TAT-59, (3) Clomiphène, (4) Raloxifène, (5) Idoxifène, (6) Centchroman.

Ces ligands démontrent un profil pharmacologique différent de celui des estrogènes. Ils interagissent avec les ERs avec une haute affinité, mais ils démontrent une sélectivité tissulaire quant à leur action i.e. antagoniste dans un tissu donné et agoniste partiel dans un autre. La liste des MSREs est de plus en plus longue, on y retrouve les triphenylethylènes, analogues du tamoxifène (droloxifène, idoxifène, toremifène et clomiphène), les benzothiophènes, analogues du raloxifène, les benzopyrans (centchroman), les dihydronaphthylènes (trioxifène) et les tetrahydronaphthylènes (Figure 3). Cependant, seuls le tamoxifène et le raloxifène ont été extensivement étudiés pour leurs effets sur le sein, l'os, le système cardiovasculaire, le métabolisme des lipides et l'endomètre. Des efforts considérables sont mis afin de comprendre le mécanisme d'action derrière la sélectivité tissulaire des MSREs. Il a été démontré que les MSREs peuvent intervenir à plusieurs niveaux de la cascade survenant après la liaison aux récepteurs. Aussi, il a été postulé qu'en se liant au récepteur, chaque MSRE donne une configuration spécifique au complexe ligand-ER, définissant un état d'activation, i.e.: état actif, inactif ou intermédiaire. Cet état d'activation unique induirait, selon le tissu considéré, des interactions ultérieures propres à chaque MSRE (i.e.: liaison au ERE, liaison au site promoteur AP-1, interaction avec les différents co-activateurs ou co-répresseurs etc...) (62, 63). Le tamoxifène a la capacité d'inhiber sélectivement le TAF-2. Ainsi, il agit comme antagoniste dans tous les tissus où le TAF-2 est nécessaire à l'activation de la transcription, i.e.: tissu mammaire. Dans le contexte où seul le TAF-1 est requis, le tamoxifène démontre une activité agoniste partielle, i.e.: l'os et l'endomètre. Ces observations ont mené à l'hypothèse que la capacité d'un MSRE de régler différemment les TAF-1 et TAF-2 confère une sélectivité quant au tissu sur lequel il agit. Cependant, ce modèle n'explique pas le fait que le raloxifène soit agoniste au niveau de l'os, alors qu'il inhibe les deux TAF (30, 31). Des évidences récentes sur l'existence d'une voie d'activation alternative du raloxifène par l'intermédiaire du RRE (raloxifene response element), contrairement à la voie d'activation classique contrôlée par le ERE (estrogene response element).(20). D'autres MSREs, tel

que le ICI182780 (Figure 4), peuvent entraver la dimérisation du récepteur, empêcher la liaison du complexe ER-ligand à l'ADN, inhiber les TAFs et finalement, dans certains cas, il peut augmenter le catabolisme du ER en transportant le complexe ER-ligand dans les lysosomes (64). Finalement, les MSREs agissent de façon différente sur les deux sous-types de récepteurs d'estrogènes ER- α et ER- β . En effet, selon la voie classique impliquant le ERE, l'activation du ER β dépend strictement des agonistes purs, alors que celle du ER- α peut aussi bien être induite par les agonistes purs que par les agonistes partiels (45).

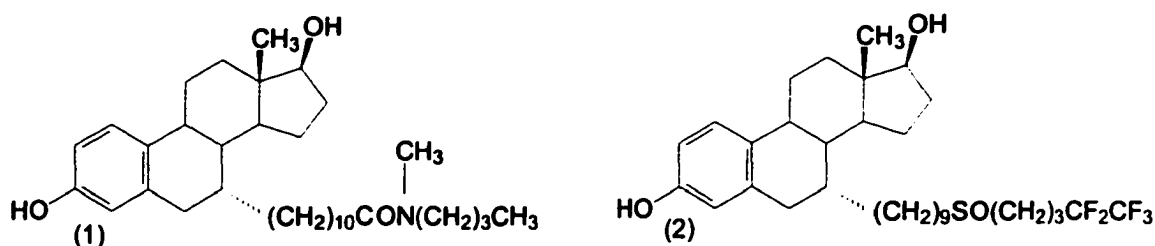


Figure 4. (1) ICI 164384, (2) ICI 182780.

A l'opposé, dans le système impliquant le promoteur du site AP-1 comme élément de réponse, les MSREs : tamoxifène, raloxifène et ICI164384 ont tous induit l'activation du ER- β , alors que l'estradiol avait une action inhibitrice sur la transcription. Le ER- α conservait le même profil d'activation dans les deux systèmes, i.e.: ERE et AP-1. Ces résultats suggèrent que la pharmacologie des MSREs est inversée au niveau du ER- β lorsque le site AP-1 est l'élément de réponse. En d'autres termes, dans le système ER- β -AP-1, les antiestrogènes sont des activateurs et les estrogènes sont des inhibiteurs de la transcription (65). En somme, plusieurs paramètres peuvent influencer l'effet d'un MSRE sur un tissu donné. Notamment, la présence simultanée des deux types de ER, leurs proportions respectives, l'affinité relative du MSRE aux deux types récepteurs, l'élément de réponse prépondérant (ERE vs. AP-1), présence de co-facteurs de transcription (co-activateur/répresseur) ainsi que leurs concentrations relatives dans le tissu en question, peuvent tous jouer un rôle déterminant sur la réponse tissulaire d'un MSRE.

3. Imagerie du cancer du sein.

3.1 Médecine nucléaire et cancer du sein. Le cancer du sein est d'origine multifactorielle, ce qui rend sa prévention difficile. La meilleure stratégie est de diminuer le taux de mortalité par une détection et une caractérisation précoces. La mammographie, qui est actuellement la seule méthode disponible pour le dépistage, présente un nombre élevé de faux positif (examen peu spécifique). L'arrivée de la résonance magnétique nucléaire (RMN) a contribué à améliorer la sensibilité mais pas la spécificité, et l'on retrouve encore un nombre élevé de biopsies mammaires blanches. Dans le but d'améliorer la spécificité, des études en médecine nucléaire ont été effectuées avec différents radiotraceurs démontrant des résultats favorables (66). Les mécanismes par lesquels un radiotraceur est attiré au site tumoral sont reliés aux facteurs suivants : la structure de la tumeur et les caractéristiques propres à la cellule tumorale. La structure d'une tumeur maligne englobe la perfusion et le métabolisme des tissus avoisinants, l'interférence avec le fonctionnement normal, l'altération de la perfusion ou du métabolisme intra-tumoral, la présence de récepteurs ou d'autres sites de liaison membranaires ainsi que le mécanisme d'extraction. Tous ces phénomènes peuvent contribuer à une grande concentration du radiotraceur dans la cellule tumorale et créer un gradient favorable entre la tumeur et le tissu avoisinant afin de permettre l'imagerie de celle-ci. Parmi les mécanismes cellulaires qui peuvent permettre la visualisation tumorale, la membrane cellulaire est un facteur important. La barrière créée par la membrane cellulaire offre une alternative quant à la captation du traceur et le partage en deux classes distinctes. La première consiste en radiotraceurs qui se lient à des structures de surfaces, tels que les récepteurs. La deuxième classe est plus hétérogène et consiste en des molécules qui ne reconnaissent aucun site de liaison directe sur la membrane. À titre d'exemple, on trouve ceux qui dépendent d'un transport actif, tels les analogues potassiques et les halogènes qui sont transportés activement à l'intérieur de la cellule, respectivement par la pompe à sodium (Na^+/K^+ -ATPase)

et la pompe à l'iode. D'autres traceurs tumoraux possèdent des mécanismes de localisation plus complexes. Parmi eux, on retrouve ceux qui se lient à une autre molécule qui possède un récepteur membranaire, tel le gallium qui se lie à la transferrine qui, par la suite, s'attache à son récepteur sur la cellule tumorale. Finalement, on retrouve le sous-groupe des traceurs cationiques et lipophiles qui sont extraits passivement par la cellule cancéreuse selon un potentiel électrochimique.

3.2 Thallium 201. Le ^{201}Tl est un élément métallique appartenant au groupe III-A de la table périodique dont le rayon ionique de la forme hydratée est similaire à celui du potassium. Il a été démontré que le ^{201}Tl est transporté par la pompe Na^+/K^+ -ATPase et que sa captation est inhibée par la ouabaïne qui est un bloqueur de cette pompe ionique (67,68).

Pendant plus de 20 ans, le ^{201}Tl a été considéré le traceur de choix pour l'étude de la perfusion myocardique. Cependant, au cours des dernières années, son potentiel oncotropique a été exploité *in vitro* et *in vivo* dans différents types de cancer, en particulier celui du sein. Des études cliniques ont été effectuées pour déterminer l'efficacité de ce traceur dans le diagnostic du cancer du sein et de ses métastases loco-régionales et à distance (69-75).

Les résultats démontrent une bonne spécificité mais une sensibilité très modeste, surtout dues aux caractéristiques physiques du ^{201}Tl qui se résument en une faible énergie (70-80 keV) et un faible flux photonique.

3.3 [$^{99\text{m}}\text{Tc}$]-MDP. Le méthylène diphosphonate marqué au technétium ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MDP) est un agent de scintigraphie osseuse. La captation extra osseuse a été observée dans plusieurs processus pathologiques, telles que les néoplasies malignes. Parmi les mécanismes de fixation extra osseuse suggérés, on retrouve l'augmentation de la perfusion, la modification locale du métabolisme (changement de PH, la concentration en calcium), les dépôts de collagène,

l'augmentation de l'espace interstitiel, la lésion de la membrane cellulaire, la présence de protéines dénaturées ainsi que la nécrose cellulaire. Les études cliniques effectuées ont montré un exemple de sensibilité autour de 95% pour les tumeurs dont le diamètre est supérieur à 1.5 cm (76). Cependant, la faible sensibilité pour les petites lésions de moins de 1 cm et la spécificité modeste (un nombre élevé de faux positifs) présentent un obstacle à l'utilisation routinière en clinique.

3.4 [^{99m}Tc]-Sestamibi. Le Méthoxisobutyisonitrile (MIBI) marqué au technétium est un cation lipophile monovalent, coordonné avec un noyau de Tc(I) central par le carbone-isonitrile. Il a été conçu comme agent de perfusion myocardique marqué au technétium dans le but de remplacer le ^{201}Tl (77). Le MIBI exploite les caractéristiques physiques quasi-optimales du ^{99m}Tc , qui a une demi-vie plus courte que le ^{201}Tl ainsi qu'une plus grande énergie, ce qui améliore la résolution et le contraste de l'image tout en diminuant l'exposition aux radiations. La première utilisation du MIBI dans l'imagerie des tumeurs remonte à 1987 (78). Les mécanismes de captation par la cellule tumorale sont encore à l'étude. Des données récentes suggèrent que l'électronégativité de la membrane cellulaire et des mitochondries soit le principal facteur dans l'extraction du MIBI. Ainsi, la majorité de l'activité du radiotraceur (~90%) se retrouve dans les mitochondries (79). Des études plus récentes ont démontré que le MIBI est un substrat de la protéine transmembranaire P-glycoprotéine (P-gp170) qui est le produit du gène de pharmacorésistance multiple MDR1 ("Multi-Drug-Resistance 1"), responsable de la majorité des échecs des régimes chimiothérapeutiques (80). Les études cliniques ont rapporté des résultats très favorables, surtout dans les tumeurs palpables du sein avec des sensibilités et spécificités de l'ordre de 90% et 85%, respectivement (81).

De nos jours, la scintimammographie au MIBI est indiquée dans des situations cliniques précises (81) et comme examen complémentaire à la mammographie

standard. Elle contribue à l'amélioration de la spécificité et des nombres de biopsies blanches.

3.5 Le [^{18}F]-FDG. Le métabolisme de la cellule tumorale se caractérise par une importante augmentation de la glycolyse et les facteurs responsables de cette augmentation sont les suivants : amplification des protéines transporteuses du glucose Glut1 et Glut3, augmentation de l'activité de l'hexokinase (l'enzyme clé de la glycolyse) et la régulation à la baisse de l'activité de la glucose-6-phosphatase (82). Tous ces processus permettent la captation et la rétention par la cellule néoplasique du [^{18}F]-fluorodeoxyglucose (FDG), un analogue du glucose, et fondent la base de l'imagerie tomographique du cancer par émission de positron (TEP) à l'aide du FDG. Cela est particulièrement vrai pour le cancer du sein dans lequel les études ont démontré une sensibilité et spécificité du FDG-TEP pour la tumeur primaire de 90% et 85%, respectivement. Des résultats similaires ont été rapportés concernant l'efficacité de détection des métastases ganglionnaires axillaires, qui constituent un facteur pronostique primordial (83,84).

3.6 Les anticorps monoclonaux. L'imagerie par des anticorps monoclonaux consiste à fixer un radionucléide sur un anticorps monoclonal dirigé contre un antigène tumoral spécifique. Dans le cas du cancer du sein, parmi les anticorps monoclonaux (MOAB) qui ont été étudiés, on retrouve ceux dirigés contre l'antigène carcinoembryogénique (CEA), la mucine épithéliale polymorphique (MUC1), la glycoprotéine antigénique tumorale 72 (TAG-72) et le récepteur transmembranaire du facteur de croissance (HER-2/neu ou c-erbB-2). Plusieurs combinaisons de MOAB et de radionucléides, tels le $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{123}I , ^{131}I et ^{111}In , ont été étudiées (85). Cependant, les résultats sont en général décevants, dus au faible gradient de captation entre les tumeurs et les tissus non-cible avoisinants.

3.7 Imagerie des récepteurs de l'estrogène. Une autre approche est celle de l'imagerie des récepteurs hormonaux exprimés sur les cellules tumorales. La

mise en évidence et la caractérisation des RE tumoraux sont des étapes importantes dans le choix du traitement, de l'établissement du pronostic et du suivi du cancer du sein. Les récepteurs estrogéniques (RE) sont des protéines sur lesquelles l'estrogène se lie avec une haute affinité et une grande spécificité. Les conséquences de l'interaction estrogène-récepteur inclut la synthèse de l'ADN, la division cellulaire, la production des protéines biologiquement actives, dont les facteurs de croissances et les récepteurs de la progestérone. Le gène du récepteur estrogénique est localisé sur le bras long du chromosome 6. Il est formé de 595 acides aminés et il contient plusieurs régions fonctionnelles appelées domaines : un domaine N-terminale A/B, un domaine C (domaine de liaison à l'ADN), un domaine D ("hinge"), un domaine E (domaine de liaison de l'hormone) et un domaine F. Le modèle classique pour le mode d'action des stéroïdes propose que la liaison du ligand au récepteur induise un changement allostatique, qui permet au complexe hormone-récepteur de se lier à des éléments de réponse à l'ADN au niveau du promoteur d'un gène cible. Le domaine de liaison de l'hormone empêche la liaison à l'ADN et inhibe l'activation de la transcription. C'est l'addition de l'hormone qui supprime cette inhibition. Initialement, l'estrogène se lie à son récepteur, le complexe estrogène-récepteur, ensuite migre à l'intérieur du noyau. Des protéines liées sur les récepteurs ("heat-shock protein") se dissocient de celui-ci et deux récepteurs doivent se dimériser afin de se lier sur des séquences nucléotidiques spécifiques nommées "éléments de réponses estrogéniques" (ERE) dans les régions régulatrices de gènes spécifiques (Figures 2,3). Ceci amène une transactivation des gènes en question.

Des radiopharmaceutiques analogues de l'estrogène marqués au fluor-18 et à l'iode-123 ont déjà été évalués en clinique (86-88, 89-91). Ces radiotraceurs sont prometteurs et démontrent en général une bonne corrélation entre leur captation tumorale et la présence de ER dans la tumeur. La puissance de cette corrélation variait selon la stabilité du produit *in vivo*, sa spécificité de liaison et son affinité pour le récepteur.

4. Historique du développement des dérivés marqués de l'estrogène pour l'imagerie des récepteurs estrogéniques.

Beaucoup d'efforts ont été déployés dans le but de développer des estrogènes marqués pour l'imagerie par scintigraphie des récepteurs estrogéniques (92-94). Ces agents auraient une application, dans les cancers du sein, où la détermination de la présence de RE est une étape essentielle dans la planification du traitement et pour le pronostic de la maladie. Ils pourraient aussi être utiles pour l'étude des récepteurs estrogéniques cérébraux et permettre de mieux comprendre certaines pathologies, comme la maladie d'Alzheimer (95-96).

Plusieurs paramètres sont importants à considérer lors de la synthèse et le développement d'un radiotraceur pour l'imagerie des récepteurs d'estrogènes. Un radiotraceur consiste essentiellement en deux composantes : un radionucléide et un traceur. L'utilité d'un radiopharmaceutique ou radiotraceur est dictée par les caractéristiques de ces deux composantes. Premièrement, il faudrait choisir un radionucléide possédant des propriétés physiques optimales pour l'imagerie scintigraphique tout en minimisant l'exposition du patient aux radiations. En second lieu, le traceur devrait démontrer des propriétés biologiques et biochimiques précises. Les critères auxquels un radiopharmaceutique devrait adhérer sont : une grande affinité et une haute spécificité pour les ERs, une stabilité biochimique et métabolique *in vivo*, une très faible liaison non-spécifique (toute liaison autre qu'aux ERs) et une grande activité spécifique. Cette dernière propriété est primordiale. En effet, les ERs sont présents en très petite quantité au niveau de la cellule, en moyenne de l'ordre de 10000 par cellule ou une partie par million (1 ppm) des protéines cellulaires; alors, dans le but d'éviter la saturation des ERs et les effets pharmacologiques, seulement une quantité minime (de l'ordre du nM) du composé marqué devrait être administrée. Cela est réalisé en exigeant une haute activité spécifique, empiriquement

supérieure à 1000 Ci/mmol ($37 \cdot 10^6$ MBq/mmol). L'imagerie des ERs par scintigraphie requiert un contraste entre la tumeur et le tissu avoisinant. Ce contraste, appelé aussi rapport cible/non-cible, dépend de plusieurs facteurs, notamment, la captation et la rétention tumorale, le métabolisme et la clairance du radiotraceur ainsi que de ses métabolites (97,98). Particulièrement, chez l'humain, où la circulation entérohépatique est importante, il faut aussi tenir compte du fait que certains dérivés estrogéniques sont plus susceptibles que d'autres à être transformés dans le foie en des métabolites ayant peu d'affinité pour les ER et qui, une fois réabsorbés, diminueraient le contraste entre la tumeur et le tissu avoisinant.

Le caractère lipophile des estrogènes, en plus de favoriser leur accumulation au niveau du tissu adipeux mammaire, il les prédispose à former des liaisons non-spécifiques, i.e. liaisons à d'autres sites que les ERs. Ces effets peuvent nuire considérablement au contraste de l'image en augmentant le bruit de fond. Les liaisons non-spécifiques dépendent de plusieurs facteurs à savoir la lipophilicité du radiopharmaceutique, sa charge, le PH du milieu, la nature de la protéine vectrice (i.e. : présence de groupes hydroxyles, groupes carboxyles, certains groupes d'acide aminés et leur configuration) ainsi que de la concentration plasmatique en anions. A titre d'exemple, à des valeurs basses de PH, les protéines plasmatiques deviennent chargées positivement, attirant ainsi davantage les composés anioniques. Dans le cas des dérivés estrogéniques de synthèse, il est important de distinguer deux catégories de liaisons non-spécifiques : 1) les liaisons à faible affinité 2) les liaisons à haute affinité. La première catégorie consiste en des sites de liaisons à faible affinité retrouvés sur les protéines plasmatiques, telle que l'albumine, ou sur les phases lipidales (i.e. : membrane cellulaire). Ce type de liaison se caractérise par une très faible affinité, et donc, non saturable aux concentrations généralement employées pour un radiopharmaceutique. Par conséquent, on convient que l'effet de ce type de liaison sur la biodistribution du radiotraceur est négligeable. La deuxième catégorie englobe certaines protéines sériques qui se lient aux estrogènes avec

une haute affinité et démontrent une haute stéréo-spécificité dans leurs liaisons. Cependant, leur profil de spécificité est différent de celui des ERs. De plus, leur affinité pour l'œstrogène est environ 10 à 20 fois moindre que celle des ERs. La plus importante de ces protéines plasmatiques est la glycoprotéine, bêta-globuline de liaison des hormones sexuelles (SHBG) chez l'humain, et la glycoprotéine alpha-fétoprotéine chez le rat (absente chez l'humain). Les concentrations plasmatiques du SHBG varient entre 14 et 60 nM chez la femme adulte. Ses niveaux sont plus élevés chez la femme enceinte et chez celle prenant des contraceptifs oraux. L'affinité (K_d) du SHBG pour l'estradiol est de l'ordre de 10 nM. Concernant la spécificité de cette protéine, il est intéressant de noter qu'elle est nettement différente de celle des ERs. Effectivement, certaines hormones stéroïdiennes, tels que les 17β -hydroxystéroïdes, se lient avec une grande affinité aux SHBG, sauf celles ayant les groupes 17α -ethynyl ou 11β -methoxy. Ces dérivés démontrent une diminution drastique dans leurs liaisons aux SHBG, tout en maintenant une haute affinité pour les ERs. Les estrogènes non-stéroïdiens et les antiestrogènes, qui se lient avec une grande affinité aux ERs, démontrent généralement aussi une très faible liaison aux protéines plasmatiques. A l'opposé, les androgènes démontrent une très haute affinité pour les SHBGs, alors qu'ils ne se lient que très faiblement aux ERs.

Les protéines de liaison des autres hormones, telles que la globuline de liaison des corticostéroïdes (CBG), la globuline de liaison de la progestérone (PBG) et la globuline de liaison de la thyroxine (TBG), démontrent une très faible affinité pour les estrogènes. De plus, leur concentration sérique est relativement faible, par conséquent, ils ne contribuent pas de façon substantielle à la liaison de l'estradiol plasmatique (97-99).

En somme, dans la préparation d'un radiopharmaceutique pour l'imagerie des ERs, il serait possible de diminuer les liaisons non spécifiques tout en gardant sensiblement la même affinité pour les ERs. Une stratégie serait de développer un ligand, tel qu'un estrogène non-stéroïdien, un antiestrogène (MSRE) ou

encore en insérant des groupes, tels que 11β -methoxy ou 17α -ethynyl dans la molécule mère. Aussi, le caractère lipophile du composé doit-il être gardé à son niveau minimal pour éviter une accumulation excessive au niveau du tissu adipeux du sein. Une stratégie alternative pour minimiser les liaisons non spécifiques serait l'injection de façon concomitante d'un agent compétiteur froid (displacing agents). Un prototype de cette classe de compétiteur serait un dérivé d'androgène. En effet, cette approche a été largement utilisée dans les essais in vitro pour la quantification des récepteurs, car les androgènes possèdent une affinité accrue pour les SHBG, mais ne se lient que très faiblement aux ERs.

Un des premiers agents radiopharmaceutiques évalués en clinique pour l'imagerie scintigraphique des récepteurs de l'estrogène est le 16α - $[^{77}\text{Br}]$ bromoestradiol (1a, Figure 5), synthétisé en 1981 par Katznellenbogen et al. (100). Ce dérivé présente une affinité et une spécificité comparables à celles de l'estradiol pour l'utérus chez la rate immature et mature, ainsi que pour des tumeurs chimio-induites (DMBA). Malheureusement, à cause des propriétés physiques défavorables du ^{77}Br ($t_{1/2}$ 2.32 j, γ 240, 520 KeV), le 16α - $^{77}\text{BrE}_2$ ne trouve pas d'application clinique (101).

Un radioélément plus prometteur est l'iode, son isotope de longue demi-vie ^{125}I ($t_{1/2}$ 60 j, γ 35 KeV) se prête bien au développement de nouvelles techniques de synthèse et aux études animales, tandis que son isotope de courte demi-vie, ^{123}I ($t_{1/2}$ 13.2 h, γ 159 KeV), permet l'obtention d'images scintigraphiques planaires et tridimensionnelles (SPECT) de haute qualité.

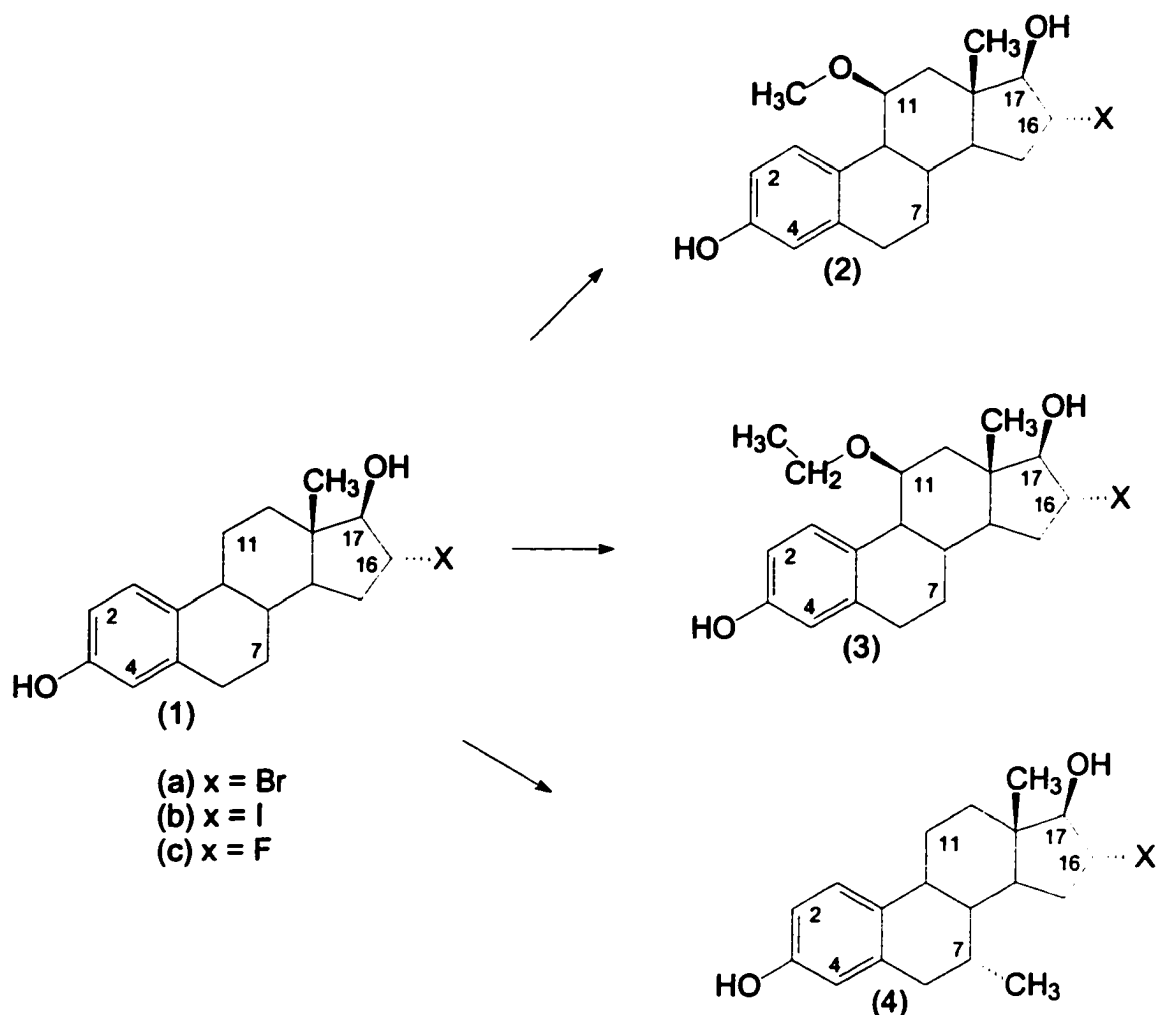


Figure 5. Famille des estradiols marqués en 16 α . (1) 16 α -estradiol, (2) 11 β -methoxy-16 α -estradiol, (3) 11 β -ethoxy-16 α -estradiol, (4) 7 α -methyl-16 α -estradiol.

Il a été démontré que l'addition d'un iode en C2 ou C4 de l'estradiol (102,103) empêchait la liaison aux récepteurs (105,106) et que, pour conserver l'affinité pour les récepteurs estrogéniques, l'attachement de l'iode à l'estradiol était limité aux positions 16 α - et 20E/Z du 17 α -iodovinyl. En 1979, Hochberg (107) synthétise le 16 α -[^{125}I]iodoestradiol, qui possède une affinité et une spécificité comparables à celles du 16 α -[^{77}Br]bromoestradiol pour les récepteurs utérins chez la rate immature. Le 16 α -[^{125}I]iodoestradiol a été grandement utilisé pour la détermination *in vitro* des récepteurs estrogéniques tumoraux (108-110). Toutefois, le 16 α -[^{125}I]iodoestradiol est éliminé de l'utérus et métabolisé plus

rapidement que le 16α -[^{77}Br]bromoestradiol (111,112). Le 16α [^{125}I] iodoestradiol ne répond pas aux critères requis pour une utilisation clinique, dû à la présence de métabolites hépatiques dans le sang qui interfèrent avec la mise en évidence des récepteurs (113,114).

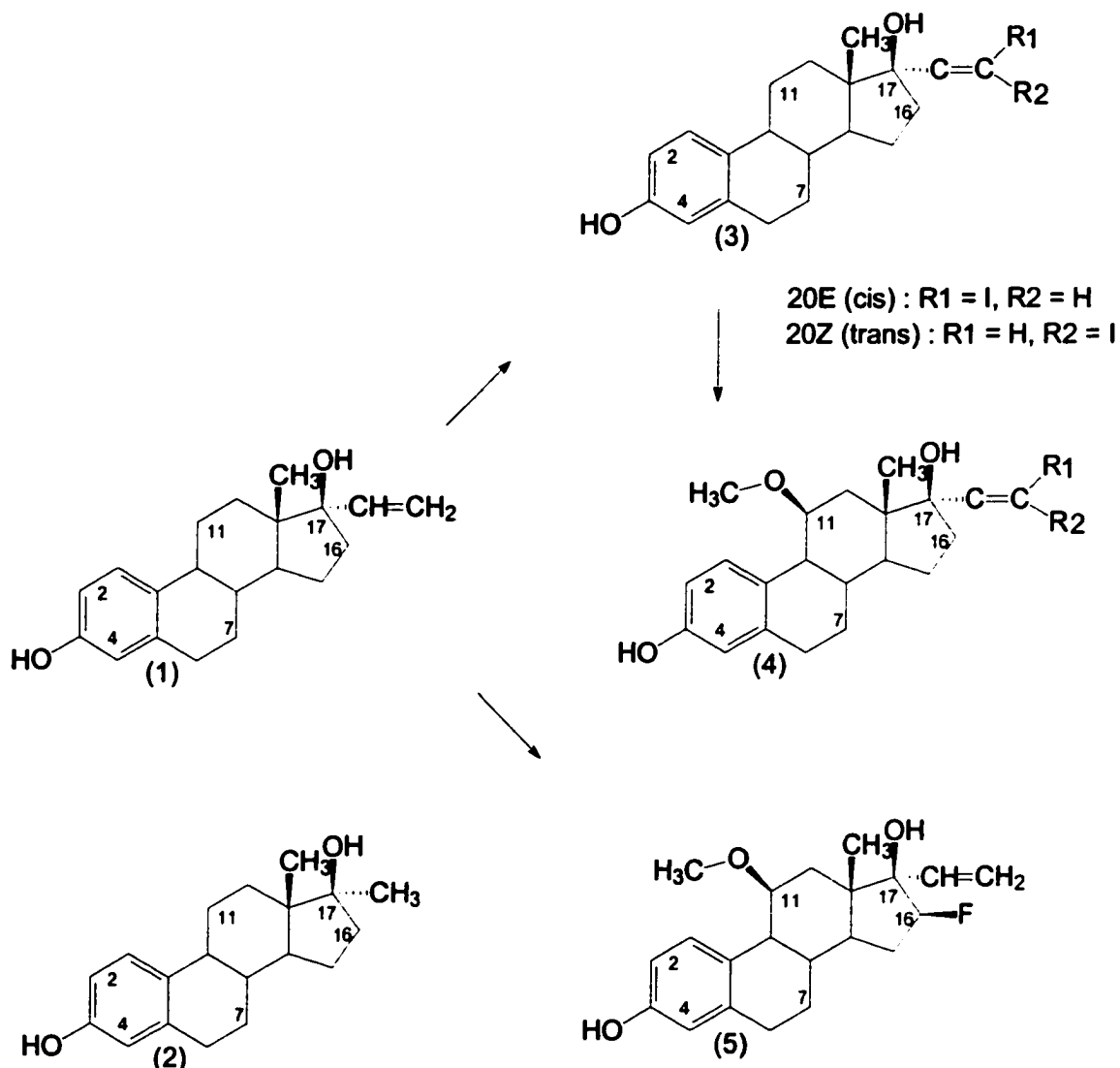


Figure 5. Famille des 17α -iodovinyl estradiol. (1) 17α -ethinyl-estradiol, (2) 17α -methyl-estradiol, (3) 17α -iodovinyl-estradiol, (4) 11β -methoxy- 17α -iodovinyl-estradiol, (5) 16β -fluoro- 11β -methoxy- 17α -ethinyl-estradiol.

Un certain nombre de stratégies ont été développées pour augmenter la concentration des estradiols marqués dans les tissus cibles, tout en conservant leur spécificité. Par exemple, la présence du groupe aliphatique en C-17 α empêche la conversion de l'estradiol en œstrone en bloquant la 17α -

dehydrogénase et devrait conférer à ces dérivés des propriétés pharmacocinétiques plus désirables (115). Malheureusement, les 17 α -éthynyl (116) et 17 α -methyl-[¹¹C]estradiol (117) se sont montrés médiocres (113). Par contre, le 17 α -iodovinylestradiol ((20E)-17 α -IVE₂), développé par Hanson (118), présente une bonne affinité et spécificité pour les récepteurs utérins de la rate immature ainsi qu'un rapport utérus/sang qui excède celui de plusieurs autres dérivés, dont les 16 α -bromo- et iodoestradiol (101,112,119). Le 17 α -IVE₂ existe sous deux formes stériques, le 20E- et le 20Z-. D'une manière générale, le 20Z présente un ("RBA") plus élevé que l'isomère 20E et une plus grande affinité pour les récepteurs utérins *in vivo* (120-122).

Pour augmenter la spécificité et la liaison aux récepteurs, l'autre approche est l'ajout d'un 11 β -methoxy qui inhibe la formation de catéchols, via l'hydroxylation en C-2 du cycle A (122-126), et confère à ces dérivés une meilleure rétention dans les tissus cibles (129,130).

La présence d'un 11 β -methoxy sur le 16 α -IE₂ améliore de beaucoup le potentiel utéro-génique de cette molécule (128,129), qui se manifeste par une haute affinité et une spécificité pour les récepteurs de l'utérus chez la rate immature, et qui se traduit par un ratio cible/non-cible très favorable. Comme pour le 16 α -IE₂, l'addition d'un 11 β -methoxy au 16 α -BrE₂ (129) augmente et prolonge la rétention dans les tissus ER+ tout en améliorant le ratio cible/non-cible. Il en va de même pour les dérivés 17 α -iodovinyl où la présence d'un 11 β -methoxy, pour donner le 11 β -methoxy-(17 α ,20Z)-iodovinylestradiol (MIVE), améliore les propriétés estrogéniques de la molécule de départ (131).

Un autre substituant qui a été utilisé avec un certain succès est l'addition d'un méthyl en position 7 α -. Chez 16 α -IE₂, la présence d'un 7 α -methyl conserve la spécificité pour l'utérus chez la rate immature; la concentration utérine est inférieure à celle observée avec le 11 β -ethoxy, alors que le rapport utérus/sang

est amélioré (132).

Lors du design de dérivés de l'estradiol, la fluorination en C-2 ou en C-4 est une approche fréquemment utilisée pour bloquer le métabolisme du cycle-A (133). À cause de la petite taille de l'atome de fluor, la substitution d'un hydrogène pour un fluor n'affecte généralement pas la liaison de la molécule avec ses récepteurs; par contre, son effet sur la distribution électronique dans la molécule peut avoir un impact important sur ses propriétés biologiques (134-136).

Il a été rapporté que l'introduction d'un 4-fluor sur l'estradiol augmente significativement son activité utérotrophique (137,138). Les études indiquent que, pour le 16 α -IE2 et son analogue 11 β -methoxy, la fluorination en C-2 améliore les propriétés biologiques, tandis qu'une fluorination en C-4 a peu d'influence sur l'affinité pour les récepteurs et le rapport cible/non-cible (139). Il a été suggéré que le fluor en C-4 augmente la conversion en catéchol, tandis que la fluorination en C-2 inhibait cette transformation. Des résultats similaires ont été obtenus avec 7 α -methyl- et le 17 α -éthynyl-2- et 4-chloroestradiol (140). À la suite de ces observations, Ali et al. (141) ont préparé les 2- et 4- fluoro des (20E/Z) IVE2 et de leurs dérivés 11 β -méthoxy et 7 α -méthylène. L'affinité relative pour les récepteurs estrogéniques ("RBA") de chacun de ces composés est en général plus élevée pour son dérivé 4-F et l'isomère (20Z). Lorsque la fluorination sur le cycle A est accompagnée d'une substitution 11 β -méthoxy et 7 α -méthylène, on note une diminution du ("RBA"). Chez la rate immature, la plus haute activité utérine et le meilleur ratio cible/non-cible ont été observés avec le 4-F-(17 α ,20Z)IVE2. Ici aussi, la combinaison d'un fluor sur le cycle A et d'un substituant en 7 α ou en 11 β cause une baisse de la captation par l'utérus, mais a peu d'effet sur le rapport utérus/sang ou non-cible.

La chlorination a également été étudiée, l'ajout d'un chlore en C-21 sur le 17 α -éthynylestradiol diminue le ("RBA"), sauf pour les 11 β -methoxy, qui montrent une importante augmentation de leur affinité pour les récepteurs estrogéniques

(142). La chlorination en C-21 du 17 α -(20E)IVE2 (142) augmente significativement le ("RBA") et la liaison spécifique à l'utérus chez la rate immature, mais favorise aussi la déiodination qui se traduit par une importante activité sanguine.

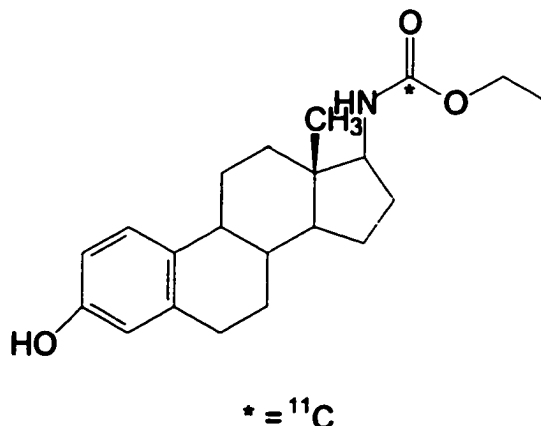


Figure 7. Structure du 17 β -carbamate-2-[^{11}C]estradiol.

Le développement de la tomographie par émission de positron (TEP) a conduit au développement de dérivés de l'estradiol marqué au ^{11}C ($t_{1/2}$ 20 min, γ 511 KeV) et au ^{18}F ($t_{1/2}$ 1.83 h, γ 511 KeV). La très courte demi-vie du ^{11}C exige que le produit atteigne rapidement un rapport cible/non-cible suffisant pour permettre l'imagerie. Le 17 β -carbamate-2-[^{11}C]estradiol (Figure 7) a été préparé par Ouellet et al. (143), mais ce produit a montré peu d'affinité et de spécificité pour les récepteurs utérins chez la rate immature.

Plusieurs dérivés estrogènes ont été marqués avec le ^{18}F (144-147). Parmi ceux-ci, le 16 α -[^{18}F]fluoroestradiol ([^{18}F]-FES) (1c, Figure 5) s'est montré très prometteur comme agent pour l'imagerie des RE tumoraux (148). Ce composé est avidement accumulé dans l'utérus chez le rat femelle (rapports utérus/sang et utérus/cible/non-cible de l'ordre de 83 et 45 ont été observés 2 heures post-injection). La liaison du FES aux récepteurs utérins est diminuée en présence de tamoxifène. Le tamoxifène possède une grande affinité pour les récepteurs de l'estrogène et la diminution de la liaison du FES en présence de tamoxifène indique un processus de nature récepteur-ligand (149,150). Le 16 β -

[^{18}F]fluoroestradiol (16 β -FES) a aussi été synthétisé, mais ce dérivé possède peu d'affinité pour les récepteurs estrogéniques (148).

Van Brocklin (151,152) a démontré que l'addition d'un 11 β -methoxy sur le 17 α -éthynyl-16 β -fluoroestradiol, pour donner le 17 α -éthynyl-16 β -fluoro-11 β -méthoxyestradiol (β FMOX) (5, Figure 5), augmentait substantiellement sa sélectivité et son rapport cible/non-cible. Chez la rate, le β FMOX possède une haute affinité et spécificité pour les récepteurs RE et est peu métabolisé (146,147), ce qui fait du ^{18}F - β FMOX un marqueur prometteur. Il est intéressant de noter que l'ajout du groupe 11 β -methoxy au FES diminue les liaisons non spécifiques, mais aussi la liaison aux RE (153).

Il y a actuellement un intérêt accru pour le marquage des analogues non stéroïdiens de l'estrogène, comme les dérivés du tamoxifène. Ces anti-estrogènes, qui ont un bon potentiel comme agent thérapeutique et préventif du cancer, pourraient devenir des agents pour l'imagerie des récepteurs de l'estrogène (154-158).

Le tamoxifène (1a, Figure 3) est lipophile et possède une très longue demi-vie biologique d'environ 7 jours. De plus, il a été démontré que le temps de résidence du complexe tamoxifène-ER dans la tumeur mammaire est d'environ 24 heures, à l'opposé du complexe estrogène-ER, qui possède un temps de résidence intra tumorale de 3 à 5 heures seulement (159,160). Ces propriétés rendent le tamoxifène ainsi que d'autres antiestrogènes des candidats potentiels pour l'imagerie scintigraphique des ERs.

L'affinité de liaison du tamoxifène aux ERs est approximativement 3% celle de l'estradiol. Cependant, l'ajout d'un groupe hydroxyle augmente l'affinité du composé de façon dramatique à environ 200% de celle de l'estradiol. D'autres modifications, telle que l'introduction d'une substitution polaire, ont pu diminuer la lipophilicité du composé (161).

Plusieurs études animales ont été effectuées avec des métabolites du tamoxifène. La grande majorité de ces études a démontré une captation spécifique au niveau des ER des tissus cibles (utérus, ovaires et vagin), ainsi que des résultats favorables quant à l'utilisation de ces antiestrogènes dans l'imagerie scintigraphique des ERs (162-166).

Tous ces produits ne font qu'ouvrir la voie à l'imagerie spécifique des récepteurs estrogéniques. Par exemple, le développement de dérivés ayant une faible excrétion entéro-hépatique permettrait, entre autre, l'imagerie d'autres pathologies hormonodépendantes, tels que le cancer de l'ovaire et de l'endomètre ainsi que des affections bénignes, mais potentiellement agressives, telle que l'endométriose.

5. Application clinique des estrogènes marqués pour l'imagerie des récepteurs estrogéniques tumoraux dans le cancer du sein .

L'utilisation clinique place un certain nombre de restrictions sur la nature des dérivés œstrogènes éligibles pour l'imagerie scintigraphique. Les produits sélectionnés doivent évidemment être sécuritaires pour le patient, et présenter une affinité pour les récepteurs estrogéniques qui puisse justifier leur évaluation clinique. Le choix du marqueur est aussi une étape importante. Il doit posséder des propriétés physiques, demi-vie et énergie, qui soient acceptables pour l'imagerie scintigraphique. Il doit aussi être possible de l'attacher par un lien stable sur l'estrogène. A la table 2, on retrouve les propriétés physiques des marqueurs, qui ont été utilisés au cours de différentes études cliniques effectuées avec les dérivés estrogènes. L'imagerie avec les isotopes [^{77}Br] (101,167) et [^{131}I] (112,168) a donné des résultats décevants. L'iode-123 et le fluor-18 sont actuellement les isotopes les plus prometteurs pour les études cliniques impliquant les dérivés estrogènes.

Table 2. Propriété physique des radioéléments utilisés comme marqueurs pour les études de scintimammographie cliniques.

Radioélément	$t_{1/2}$ †	Emission	Energie*
^{123}I	13.2 h.	γ	159 kEv
^{131}I	8.04 d.	γ	364 kEv
^{77}Br	2.32 d.	β^+	512 kEv
^{18}F	110 min.	β^+	512 kEv

† min = minutes, h = heures, j = jours.

* Seules les radiations utilisées pour l'imagerie sont énumérées.

Les études cliniques se sont développées autour des deux grandes familles de dérivés estrogènes, soit les 16α -IE2 (^{18}F , ^{123}I) et les 17α -(20-iodo)-vinyl-E2 (^{123}I).

5.1 Les dérivés estradiols marqués en 16α -. Les principaux dérivés estrogènes marqués en 16α et évalués en clinique, sont le 16α -[^{123}I]Iodoestradiol, le [^{18}F]- 16α -fluoroestradiol et le 16β -[^{18}F]Fluoromoxestrol.

5.1.1 Le 16α -[^{123}I]Iodoestradiol ([^{123}I]-IE₂): La première étude clinique effectuée avec le 16α -Iodoestradiol date de 1985 (112), et utilisait l'iode-131 comme marqueur. Les images obtenues avec ce marqueur ne présentaient toutefois pas une qualité suffisante pour permettre d'établir une relation entre la présence d'estrogènes tumoraux et l'accumulation du 16α -Iodoestradiol. La piètre qualité des images n'est pas surprenante, si l'on considère que l'iode-131 émet un gamma de 364 kEv, et que les scinticaméras et leur collimateur sont optimisés pour des gamma ayant une énergie de l'ordre de 140 kEv. De plus, la longue demi-vie de l'iode-131 (8 jours) pose une limitation importante sur la dose qui peut être administrée aux patients. Une autre étude, conduite cette fois-ci avec l'iode-125 chez 12 patientes, 11 étaient atteintes de cancer des ovaires et une présentait un cancer de l'endomètre, a démontré une forte corrélation entre l'accumulation du [^{125}I]16 α -Iodoestradiol et la concentration en récepteur de

l'estrogène (113). Puisque l'iode-125 avec son gamma de 35 keV ne se prête pas à l'imagerie scintigraphique, cette deuxième étude a nécessité le prélèvement et le comptage d'échantillons de tissus. Il a donc été déduit de ces études cliniques que le 16 α -Iodoestradiol possédait un potentiel suffisant pour permettre l'imagerie scintigraphique des récepteurs estrogéniques, mais qu'il restait à trouver un marqueur possédant des propriétés physiques plus favorables.

L'iode-123 étant la solution, comme pour les autres isotopes de l'iode, il pouvait être facilement attaché au squelette de l'estradiol et possédait d'excellentes propriétés physiques (Table 2). La commercialisation de l'iode-123 a donc relancé l'intérêt pour le 16 α -Iodoestradiol .

Preston (89,90,169) a évalué le [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol chez un groupe de 28 femmes soupçonnées ou atteintes de cancer du sein. Chaque patiente a reçu par voie intraveineuse 3 mCi de [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol. La région atteinte a été imagée deux heures après l'injection du [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol, par tomographie (SPECT). Une captation focale du [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol a été observée chez 8 des 9 patientes, dont la nature néoplasique de la lésion a été histologiquement confirmée. Parmi les tumeurs ayant accumulé le [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol, 4 étaient RE+, 3 étaient RE- et 2 étaient de nature hormonale indéterminée. La tumeur, n'ayant pas montré d'accumulation de [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol, était de statut hormonal inconnu. Au cours de cette étude, 14 ganglions axillaires ont montré une accumulation focale du [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol, 6 ont été confirmés cancéreux et 8 étaient normaux. Le statut hormonal de ces ganglions ou de la lésion primaire n'est pas rapporté. Une accumulation focale de [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol a été observée chez deux patientes imagées peu de temps après un traitement de radiothérapie ou de tamoxifène, et ne présentant plus d'évidence clinique de cancer. L'une de ces femmes qui avaient montré une accumulation médiastinale et axillaire bilatérale du [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol et un CT normal, a été diagnostiquée deux ans plus

tard avec une récurrence de son cancer du sein, correspondant aux régions qui avaient accumulé le [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol. Ce résultat indique une possible valeur pronostique de l'imagerie au [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol.

A cours d'une autre étude (170), le [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol a été évalué chez 21 patientes âgées de 20 à 89 ans, 14 étaient atteintes d'une lésion cancéreuse primaire ou récurrente, et 7 présentaient des lésions bénignes. Le statut hormonal de ces lésions n'était pas connu au moment de l'interprétation des images. Une accumulation focale du [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol a été observée chez 7 des 9 tumeurs RE+ (7 vrais positifs et 2 faux négatifs). Les 5 lésions cancéreuses RE-, ainsi que les lésions bénignes, n'ont pas accumulé le [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol, donc 5 vrais négatifs. Une patiente ayant montré une accumulation focale [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol dans le sein gauche, mais qui ne présentait pas d'évidence de cancer à la chirurgie, a été diagnostiquée, 5 semaines plus tard, comme ayant une lésion multifocale RE+ de ce sein. Cette observation indique-t-elle aussi que le [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol peut détecter des foyers de cellules cancéreuses, avant qu'elles ne présentent des signes cliniques?

Le [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol a été administré à 62 patientes lors d'une étude multi-centre effectuée en 1991 en Allemagne (171). La population étudiée comprenait 24 patientes présentant des lésions bénignes du sein et 42 patientes atteintes d'un cancer du sein. Parmi les patientes néoplasiques, on comptait 37 lésions primaires du sein, et lésions récurrentes ou métastases. Le statut hormonal des lésions cancéreuses était connu pour 34 des 42 patientes. Le [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol s'est accumulé dans 19 lésions, soit 18 vrais positifs et un faux positif; les 7 lésions RE- n'ont pas montré d'accumulation de [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol. Parmi les 12 lésions bénignes étudiées, sept contenaient des récepteurs pour l'estrogène, mais une seule a accumulé le [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol. Quelques-unes des patientes présentant une lésion maligne ont montré une accumulation diffuse du [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol dans la région para

sternale et axillaire, bien qu'aucune évidence de cancer dans ces régions n'ait pu être démontrée.

Lors d'une étude prospective conduite chez 25 femmes, 20 atteintes d'un cancer du sein et 5 présentant une lésion mammaire bénigne, Scheidhauer (172) a rapporté une bonne corrélation entre la présence de RE et l'accumulation focale du [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol. Aucune des lésions bénignes n'a accumulé le [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol.

Au cours d'une étude plus récente, Kenady 1993 (173), portant sur 29 femmes atteintes de lésion primaire ou récurrente du sein, l'auteur a rapporté que le [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol permet d'imager par SPECT des lésions de l'ordre de 1 à 2 cm. La même étude conclut que la scintimammographie au [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol est supérieure à la mammographie pour la mise en évidence des lésions cancéreuses situées sur la paroi thoracique, ainsi que pour les lésions cancéreuses inflammatoires. Il faut toutefois ajouter que la présence de récepteurs estrogéniques dans ces lésions est un pré-requis à leur mise en évidence par le [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol.

5.1.2 Le [^{18}F]-16 α -fluoroestradiol (FES): L'atome de fluor est beaucoup plus petit que celui de l'iode, et la substitution d'un fluor pour un hydrogène en 16 α ou 16 β est stériquement bien tolérée et donne une molécule qui conserve son affinité pour les récepteurs de l'estrogène. Il a été établi que l'épimer 16 α possède une meilleure affinité que le 16 β pour les récepteurs estrogéniques, et il a donc été sélectionné pour les études cliniques (174).

Une des premières études cliniques effectuées avec le [^{18}F]-16 α -fluoroestradiol, Mintun 1988 (88), regroupait 13 patientes post-ménopausées, présentant un examen clinique ou une mammographie suggérant la présence d'un cancer. Les patientes ayant déjà été traitées pour un cancer du sein ou étant sous thérapie

hormonale ont été exclues de l'étude. La présence de métastases n'était pas connue au moment de l'étude. Chaque patiente a reçu, par voie intraveineuse, 6 mCi de [^{18}F]-16 α -fluoroestradiol (1 patient 2.5 mCi). Deux patientes ont été éliminées de l'étude, une présentant une lésion bénigne qui n'a pas capté le [^{18}F]-16 α -fluoroestradiol, et l'autre parce que la tumeur se trouvait en dehors du champ imagé. Parmi les 11 patientes retenues, on a observé 8 vrais positifs et deux faux négatifs. Chez 9 de ces patientes la concentration tumorale de [^{18}F]-16 α -fluoroestradiol a été corrélée avec la concentration de récepteurs de l'estrogène et de la progestérone. Une corrélation significative ($r = 0.96$, $p = 0.001$) a été observée entre la quantité de [^{18}F]-16 α -fluoroestradiol trouvée dans la tumeur et sa concentration en récepteurs de l'estrogène; par contre, aucune corrélation n'a pu être établie avec la concentration de récepteur de la progestérone. Chez sept des patientes évaluées, présentant des métastases de la région axillaire, on a observé 3 vrais positifs, 2 vrais négatifs, 1 faux négatif et 1 faux positif.

Une seconde étude (87) a été effectuée avec le [^{18}F]-16 α -fluoroestradiol, chez 15 patientes âgées de 45 à 83 ans, présentant des évidences de tumeur récurrentes ou de métastases, suite à une tumeur primaire dont le statut hormonal était connu pour être positif. L'étude a rapporté 11 vrais positifs et 2 faux positifs. Sept des patientes qui avaient montré une captation du [^{18}F]-16 α -fluoroestradiol, ont été de nouveau imagées après initiation de la thérapie hormonale (Tamoxifène) et ont montré une diminution de l'ordre de 24 à 69% de la captation tumorale. Par contre, il n'y a eu aucune relation entre le taux de diminution de la captation tumorale en présence de Tamoxifène et la durée de la période de rémission.

Dehdashti (86) a étudié la relation entre l'accumulation dans les tumeurs du sein du [^{18}F]-16 α -fluoroestradiol et du [^{18}F]-Fluoro-2-deoxy-D-glucose (FDG). Le [^{18}F]-Fluoro-2-deoxy-D-glucose est un marqueur de l'activité métabolique des tumeurs. L'étude regroupait 32 patientes présentant des évidences de tumeurs primaires du sein, et 21 patientes présentant des lésions métastatiques ou

récurrentes. Huit des lésions primaires se sont avérées bénignes et n'ont capté ni le [^{18}F]-Fluoro-2-deoxy-D-glucose ni le [^{18}F]-16 α -fluoroestradiol. Les 24 tumeurs primaires restantes ont donné 13 vrais négatifs, 6 vrais positifs et 4 faux négatifs. Le statut hormonal était indéterminé chez une patiente. Dans le second groupe, il y avait 4 patientes avec des lésions récurrentes, 15 avec des lésions métastatiques et 2 tumeurs bénignes. Comme pour le premier groupe, les lésions bénignes n'ont montré aucune captation focale du [^{18}F]-16 α -fluoroestradiol ou du [^{18}F]-Fluoro-2-deoxy-D-glucose. Parmi les lésions cancéreuses, les auteurs ont observé 9 vrais positifs, 7 vrais négatifs et 1 faux négatif. Cette étude conclut qu'il existe une bonne corrélation entre la fixation du [^{18}F]-16 α -fluoroestradiol dans les tumeurs et la présence de récepteurs de l'estrogène. Par contre, la captation tumorale du [^{18}F]-Fluoro-2-deoxy est indépendante de la présence de récepteurs de l'estrogène.

Le même auteur (175) a étudié la relation possible entre la réaction de ("Flare reaction"), observée chez certaines patientes sous thérapie hormonale, et la captation tumorale du [^{18}F]-16 α -fluoroestradiol. Cette "flare reaction" qui se manifeste par un érythème et une douleur des tissus mous, est associée à une stimulation des fonctions estrogéniques de la tumeur. L'apparition de "flare reaction" est généralement un bon pronostic. Cette étude a été conduite chez un groupe de patientes présentant des métastases ER+ et sélectionnées pour une thérapie hormonale. Avant l'initiation de la thérapie, toutes ces patientes avaient montré une accumulation focale du [^{18}F]-16 α -fluoroestradiol (11 vrais positifs). Il a été observé que les patientes ayant le mieux répondu à la thérapie au Tamoxifène, étaient celles qui avaient présenté le plus haut taux de captation tumorale du [^{18}F]-16 α -fluoroestradiol. L'administration du Tamoxifène s'est traduite par une diminution de la captation tumorale du [^{18}F]-16 α -fluoroestradiol, cet effet étant le plus marqué chez les patientes qui ont répondu favorablement au traitement. Cette étude conclut que le [^{18}F]-16 α -fluoroestradiol pourrait se montrer utile pour prévoir la réponse au traitement hormonal. Ces conclusions sont supportées par les travaux de Mortimer (176), qui a étudié la relation entre

la captation tumorale du [^{18}F]-16 α -fluoroestradiol et du [^{18}F]-Fluro-deoxy-glucose, et la réponse à la thérapie chez 43 patientes présentant des lésions cancéreuses du sein avancées ou métastatiques. Cette étude suggère une relation entre l'absence de captation tumorale [^{18}F]-16 α -fluoroestradiol dans une tumeur RE+ et la résistance à la thérapie hormonale.

5.1.3 Le 16 α -[^{18}F]Fluoromoxestrol ([^{18}F] β FMOX): Le 16 β -[^{18}F]Fluoromoxestrol est le dérivé fluoré du Moxestrol (11 β -methoxy-17 α -ethynylestradiol). Le Moxestrol est un dérivé œstrogène très puissant et les études animales laissaient entrevoir un composé qui serait nettement supérieur au [^{18}F]-16 α -fluoroestradiol pour l'imagerie des récepteurs de l'estrogène (146). Malheureusement, l'utilisation clinique du 16 α -[^{18}F]Fluoromoxestrol a été décevante (177). Cette étude regroupait 12 femmes, 5 lésions bénignes, 3 cancers RE+ et 4 cancers RE-. Aucune des lésions n'a montré une accumulation focale du 16 β -[^{18}F]Fluoromoxestrol. Selon les auteurs, l'absence de 16 α -[^{18}F]Fluoromoxestrol dans les lésions RE+ serait due au peu d'affinité de cette molécule pour les SHBG, qui sont impliqués dans le transport de l'estradiol chez l'humain.

5.2 Les dérivés Iodovinylestradiols. Les iodovinyls estradiols forment la deuxième grande famille de dérivés marqués de l'estradiol qui ont été évalués en clinique. Sur ces dérivés, l'iode est éloigné du squelette stéroïdien par une chaîne aliphatique (iodovinyl) attachée en position α sur le carbone 17. Comme on l'a mentionné précédemment, l'iode est attaché sur le carbone 20 d'une chaîne iodovinyl, et peut exister sous deux formes stéréoisomériques, soit "(20E)" et "Z".

5.2.1 Le [^{123}I]Iodovinylestradiol ([^{123}I]-IVE₂): Comme pour le 16 α -Iodoestradiol, la première tentative d'imagerie clinique avec le 17 α -Iodovinyl à utiliser l'iode-131 comme marqueur (168), a eu comme résultat des images de

mauvaise qualité et des résultats difficiles à interpréter. Toutefois, cette étude a le mérite d'avoir démontré la stabilité *in vivo* du 17 α -Iodovinyl. Des études ultérieures, faites chez les animaux, ont démontré que l'addition d'un groupement 11 β -méthoxy pour donner le 11 β -méthoxy (17 α -Iodovinyl) estradiol, améliorait de beaucoup la liaison de la molécule aux récepteurs. Ce composé est celui qui a, par la suite, été utilisé pour les études cliniques.

La première étude clinique (91) impliquait l'isomère "20-E" du 11 β -méthoxy(17 α -Iodovinyl)estradiol et portait sur 8 femmes atteintes d'une lésion primaire du sein. Sur quatre lésions primaires classées RE+, deux ont capté le 11 β -méthoxy(17 α -Iodovinyl)estradiol. Cette étude SPECT a été étendue à 11 autres patientes, chez qui la tumeur primaire avait été retirée chirurgicalement et qui présentaient des métastases. Cinq des six patientes, dont la lésion primaire était RE+, ont montré une accumulation du 11 β -méthoxy(17 α -Iodovinyl) estradiol dans les lésions métastatiques.

Toutefois, de nouvelles études animales (121) indiquent que l'isomère "20-Z", bien que stériquement moins stable que le "20-E", présentent une plus grande affinité pour les récepteurs de l'estrogène. Rijks (178) a été la première à démontrer que le "20-Z" 11 β -méthoxy(17 α -Iodovinyl)estradiol pouvait être utilisé chez l'humain pour l'imagerie scintigraphique des récepteurs tumoraux de l'estrogène.

5.3 Le fluoro-tamoxifène Vu sa grande affinité pour les récepteurs de l'estrogène, plusieurs laboratoires se sont intéressés à la synthèse de dérivés marqués du tamoxifène. Le fluoro-tamoxifène a d'abord été synthétisé en attachant le fluor directement sur le cycle aromatique (179) (1b, Figure 3). Il a plus tard été démontré qu'il était plus avantageux de fixer le fluor par une chaîne aliphatique (Figure 8). En ce qui concerne les études chez l'humain, le fluorotamoxifène (FTX) a été évalué par l'équipe de Inoue et al.(180) et celle de Yang et al. (166). Ces études, faites chez des patientes ayant un cancer du sein,

ont démontré que le FTX permettait la localisation des tumeurs ainsi que de leurs métastases. De plus, dans les cas avancés de cancers du sein récidivants ou métastatiques, le FTX pouvait prédire l'efficacité de la thérapie hormonale avec le tamoxifène. Cependant, ces études ont été menées sur un nombre limité de patientes, et de plus grandes études s'imposent afin de confirmer ces résultats prometteurs.(166,180)

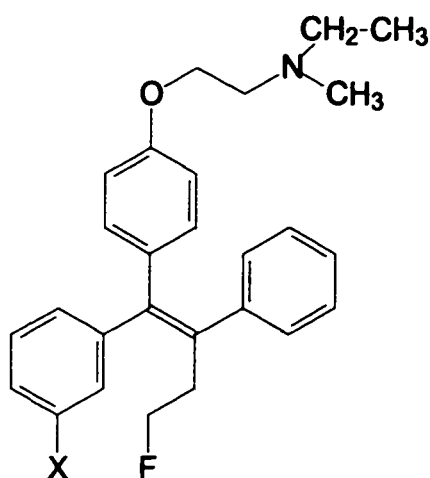


Figure 8. Fluoro-tamoxifène FTX.

5.4 Considérations cliniques L'expérience qui a été acquise au cours de ces différentes études cliniques avec les dérivés d'œstrogènes marqués, a permis d'établir que le rôle clinique des œstrogènes marqués est de déterminer le statut hormonal de la tumeur mammaire et de ces métastases chez des patientes ayant un cancer confirmé (172). Ces dérivés possèdent des propriétés biologiques et des biodistributions semblables. En effet, ces molécules démontrent une excrétion hépato-biliaire rapide sans captation significative au niveau cardio-pulmonaire, ce qui favorise l'imagerie des tumeurs mammaires. Par contre, l'excrétion par voie intestinale empêche l'imagerie des ovaires, de l'utérus et de possibles métastases abdominales. De plus, au cours des premières études cliniques effectuées avec le 16 α -Iodoestradiol marqué, soit à l'iode-131 ou – 125, on a observé que la clairance hépatique était suivie de l'apparition dans le sang de dérivés moins polaires, possiblement le 16 α -iodoestrone. Le 16 α -

iodoestrone présente peu d'affinité pour les récepteurs de l'estrogène, et sa présence dans le plasma va contribuer à augmenter le bruit de fond (112,113).

Aucun effet secondaire n'a été rapporté suite à l'administration intraveineuse de dérivés de l'estrogène marqués, soit à l'iode-123 ou au fluor-18. Il est à noter que ces produits sont administrés à des doses beaucoup trop faibles pour induire une réponse pharmacologique. Le principal risque est comme pour les autres produits radiopharmaceutiques liés à la dose de radiation reçue par le patient. Des doses variant entre 1 à 5 mCi de [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol ont été administrées sans qu'il y ait d'effet toxique sur les fonctions métaboliques hépatiques (173).

Avec le [^{18}F]-16 α -fluoroestradiol, les images sont généralement acquises entre 30 minutes et deux heures suivant l'injection d'une dose de 6 mCi. Malgré ses nombreux avantages, l'utilisation du [^{18}F]-16 α -fluoroestradiol est limitée par le coût élevé des caméras PET et par la courte demi-vie du fluor-18, qui nécessite généralement la présence d'un cyclotron à proximité du centre d'imagerie.

5.5 Imagerie des récepteurs de la progestérone : Il a été observé que certaines tumeurs RE+ ne répondent pas à la thérapie hormonale. L'hypothèse la plus probable est que les récepteurs estrogéniques de ces tumeurs ont perdu leur fonctionnalité. Puisque la présence de récepteurs de l'estrogène fonctionnels est un pré-requis à la formation des récepteurs de la progestérone, il a été avancé que l'imagerie des récepteurs de la progestérone serait un meilleur indicateur de la capacité de la tumeur à répondre à la thérapie hormonale (159, 181,182).

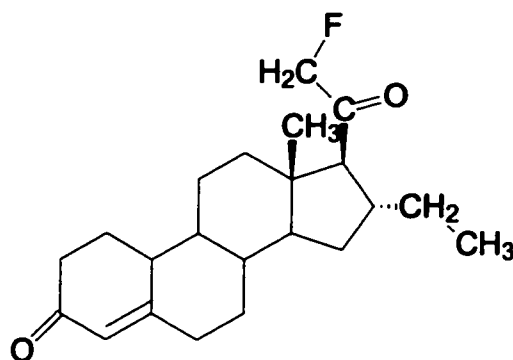


Figure 9. Structure du 21-[^{18}F]Fluoro-16 α - ethyl-19-norprogestérone ([^{18}F]FNP)

Une étude clinique (183) préliminaire a été conduite avec le 21-[^{18}F]Fluoro-16 α -ethyl-19-norprogestérone ([^{18}F]FNP) (Figure 9), chez un groupe de 8 patientes présentant une tumeur primaire du sein. L'étude a rapporté que la moitié des tumeurs PR+ a montré une captation focale du [^{18}F]FNP. Aucune corrélation n'a pu être établie entre la concentration en récepteur de la progestérone dans la tumeur et l'accumulation du [^{18}F]FNP. Le peu de spécificité de ce composé et sa tendance à perdre son fluor in vivo exclut son utilisation clinique. Cette approche est toutefois prometteuse et d'autres travaux sont en cours pour développer de meilleurs agents pour l'imagerie de récepteurs de la progestérone (183,184).

Table 3. Résumé des différentes études cliniques portant sur la scintimammographie des récepteurs de l'estrogène.

Table 3: Résumé des différents études cliniques portant sur la chemoradiothérapie des tumeurs de l'œstrogène.											
		Nature de la lésion			Statut des récepteurs œstrogènes, tel que déterminé in vitro			Corrélation entre la captation focale de la radioactivité et la présence de récepteurs de l'œstrogène			
Study (ref)	n	Pas de lésion	bénigne	Cancer	RE+	RE-	Indéterminé	VP	VN	FP	FN
		16α-[¹²⁵ I]Iodoestradiol									
Preston (9 – 11)	27	?	?	9	4	3	2	4	?	3	?
Schober (12)	21	0	7	14	9	12	0	7	12	0	2
Scheidhauer (13)	62	0	20	42*	26	8	0	18	7	1	8
Scheidhauer (14)	25	0	5	20	15	5	0	11	4	1	4
Total	135	0	32	85	54	38	2	40	23	5	14
		(20E-) 11β-methoxy-17α-[¹²⁵ I]Iodovinylestradiol									
Ribeiro-Barras (16)	8 11 [†]	0 0	0 0	8 11	4 6	4 1	0 4	2 5	4 1	0 0	2 1
Total	19	0	0	19	10	5	4	7	5	0	3
		(20Z-) 11β-methoxy-17α-[¹²⁵ I]Iodovinylestradiol									
Rijks (18)	2	0	0	2	2	0	0	2	0	0	0
Rijks (19)	12 13 [†]	0 0	0 0	12 13	9 9	1 2	2 2	9 8	1 2	0 0	0 1
Nachar (20 – 20a)	13	0	3	10	3	7	0	3	5	2	0
Total	40	0	3	37	23	10	4	22	8	2	1
		16α-[¹⁸ F]Fluoroestradiol-17β									
Mintun (24)	13	1 [‡]	1	11	8	2	0	8	1	2	0
McGuire (25)	16	2	0	14	13	0	1	11	0	2	2
Dehdashti (26)	32 21 [‡]	0 0	8 2	24 19	10 10	13 7	1 2	6 9	13 7	0 0	4 1
Dehdashti (28)	11 [‡]	0	0	11	11	0	0	11	0	0	0
Mortimer (33)	43	0	0	43	21	20	2	16	20	0	
Total	136	3	11	122	73	42	6	61	41	4	7

VP = Vrai positif (Accumulation focale de la radioactivité, tumeur RE+), VN = Vrai négatif (Pas d'accumulation focale de la radioactivité tumeur RE-), FP = Faux positif (Accumulation focale de la radioactivité, Tumeur RE-), FN = Faux négatif (Pas d'accumulation focale de la radioactivité tumeur RE+), ? = valeurs non-publiées.

*34 cas furent retenus.

‡ Patients présentant des lésions récurrentes ou métastatiques.

† La tumeur était hors du champ de vision de la caméra.

Table 4. Comparaison du potentiel scintigraphique de certains dérivés estrogènes évalués en clinique.

Statistiques	¹²³I			¹⁸F
	IE₂	E-IVE₂	Z-IVE₂	FES
Spécificité	0.82	1.00	0.80	0.91
Sensibilité	0.74	0.70	0.96	0.90
Prédictif (-)	0.62	0.63	0.89	0.85
Prédictif (+)	0.89	1.00	0.92	0.94
Précision	0.77	0.80	0.91	0.90

Statistiques calculées à partir des valeurs de la table 2.

ARTICLE 1

Biodistribution Dosimétrie et Métabolisme du 11 β -Methoxy-(17 α ,20E/Z)- [¹²³I]Iodovinylestradiol chez des Femmes en Santé et chez des Patientes Atteintes d'un Cancer du Sein.

(Biodistribution, Dosimetry and Metabolism of du 11 β -Methoxy-(17 α ,20E/Z)-[¹²³I]Iodovinylestradiol in
Healthy Women and breast cancer Patients)

Résumé de l'article

Nous avons évalué la dosimétrie et la biodistribution des isomères 20E et 20Z du 11 β -Methoxy-(17 α , 20E/Z)-[¹²³I]Iodovinylestradiol (MIVE) chez six femmes en bonne santé. La captation tumorale et le métabolisme du 20Z ont été également étudiés chez 13 patientes référées suite à une mammographie ou un examen physique suspects. **Méthode** : Les 20E et 20Z(MIVE) ont été obtenus à partir de leur précurseur stanylé. Les produits marqués ont été administrés par voie intraveineuse. Des échantillons de sang ont été prélevés à différents intervalles de temps et l'urine a été recueillie jusqu'à vingt-quatre heures post injection. Les métabolites ont été analysés par radiochromatographie. La distribution de la radioactivité dans les tissus a été suivie par scintigraphie. La dosimétrie a été calculée selon le modèle MIRD (Medical Internal Radiation Dose). **Résultats** : Les isomères 20E et 20Z du MIVE présentent une biodistribution semblable. La stabilité in vivo du 20Z [¹²³I]MIVE a été démontrée à partir de l'analyse d'échantillons de plasma provenant des sujets sains, de patientes atteintes d'un cancer du sein et de l'incubation de 20Z(MIVE) dans du plasma humain. La radioactivité est rapidement retirée du sang par le foie et excrétée par voie intestinale. La plus forte dose de radiation (0.211 mGy/MBq) est d'ailleurs reçue par le colon. Les doses effectives calculées pour une femme adulte et le modèle homme standard sont respectivement de 0.054 et 0.046 mSv/MBq. Parmi les treize patientes imagées avec le (20Z) MIVE, 3 présentaient des lésions bénignes de nature fibrocystique et n'ont pas montré de captation focale du MIVE. Chez les dix patientes atteintes de cancer, la scintigraphie au MIVE était en accord

avec le statut hormonal de la tumeur, tel que déterminé in vitro chez huit d'entre elles. Deux lésions démontraient une captation focale du MIVE, mais s'avéraient ER négatives in vitro.

Conclusion: La dose de radiation reçue après administration d'une dose diagnostique de MIVE est dans les normes acceptables. Il a été établi qu'il existe une bonne corrélation entre la captation tumorale du ²⁰Z (MIVE) et la présence de récepteurs tumoraux pour l'estrogène.

Nachar, O., Rousseau, J. A., Lefebvre, B., Ouellet, R., Ali, H., & Lie, J. E. van. (1999).

Biodistribution, Dosimetry and Metabolism of 11 β -Methoxy-(17 α , 20E/Z)-

[¹²³I]Iodovinylestradiol in Healthy Women and Breast Cancer Patients. *Journal of*

Nuclear Medicine, 40(10), 1728-1736.

ARTICLE 2

La scintimammographie au 11 β -Methoxy-(17 α ,20 \underline{Z})-¹²³I]Iodovinylestradiol (MIVE) : Un rôle complémentaire au ^{99m}Tc-MIBI dans la caractérisation des tumeurs du sein.

(Scintimammography with 11 β -Methoxy-(17 α ,20 \underline{Z})-[¹²³I]Iodovinylestradiol (MIVE) : A Complementary Role to ^{99m}Tc-MIBI in the characterization of Breast Tumors.)

Résumé de l'article

Le ^{99m}Tc-methoxyisobutyl isonitrile (MIBI) est utilisé de routine pour la détermination de la nature maligne des lésions mammaires. Une scintigraphie au MIBI positive ne donne toutefois aucune indication sur la présence de récepteurs de l'estrogène (RE) sur la tumeur. Cette information est actuellement obtenue par analyse in vitro d'échantillons de la tumeur. L'imagerie scintigraphique des récepteurs de l'estrogène (RE) tumoraux aiderait à mieux caractériser le statut hormonal de la tumeur et permettrait de choisir le protocole de traitement le plus approprié. Au cours de cette étude, nous avons comparé la scintigraphie au MIBI avec les images obtenues avec un agent d'imagerie des récepteurs de l'estrogène, de l'imagerie au 11 β -Methoxy-(17 α ,20 \underline{Z})-[¹²³I]Iodovinylestradiol (MIVE) et le statut hormonal de la lésion, tel que déterminé in vitro. **Méthode** : Treize patientes référées pour une scintimammographie au MIBI, suite à une mammographie ou un examen physique suspect, ont été injectées par voie intraveineuse avec le MIVE. Des images planaires des seins et de la région axillaire ont été effectuées séparément avec chaque agent radiopharmaceutique. Les résultats des scintigraphies ont été comparés à ceux de l'examen pathologique de la tumeur et le taux de récepteurs de l'estrogène, tel que déterminé in vitro. **Résultats** : Les résultats démontrent que l'accumulation du MIBI dans la lésion mammaire est un pré-requis à la fixation du MIVE dans la tumeur. Il n'y a toutefois pas de corrélation statistiquement significative entre la quantité de MIBI et de MIVE accumulée par la tumeur. La captation du MIVE dans la tumeur est, par contre, en accord avec la présence de RE, tel que

déterminé in vitro. **Conclusion** : La scintimammographie au MIVE amène une information supplémentaire et unique sur l'état des récepteurs d'estrogène au niveau de la tumeur cancéreuse. De plus, la scintimammographie au MIVE, combinée avec celle au MIBI, contribue à une meilleure caractérisation de la tumeur et peut modifier avantageusement le choix du protocole thérapeutique.

Nachar, O., Rousseau, J. A., Ouellet, R., Rioux, A., Lefebvre, B., Ali, H., & Lie, J. E. van.

(2000). Scintimammography with 11 β -Methoxy-(17 α ,20Z)-

[¹²³I]Iodovinylestradiol : A Complementary Role to ^{99m}Tc-Methoxyisobutyl

Isonitrile in the Characterization of Breast Tumors. *Journal of Nuclear*

Medicine, 41(8), 1324-1331.

ARTICLE 3

Rôle des Récepteurs de l'Estrogène dans la captation cérébrale du 11 β -Methoxy-(17 α ,20 Z/E)-[I-125/I-123]Iodovinylestradiol (MIVE)

(IS 11 β -METHOXY-(17 α ,20 Z)-[I-123]IODOVINYLESTRADIOL (MIVE) BRAIN-UPTAKE ESTROGEN RECEPTOR MEDIATED?)

Résumé de l'article

La maladie d'Alzheimer (MA) est une atteinte dégénérative cérébrale qui se caractérise par une perte progressive de la mémoire et des autres fonctions cognitives. L'origine de cette maladie est multifactorielle et implique des facteurs génétiques, métaboliques, héréditaires et environnementaux. Le risque de développer la maladie d'Alzheimer est de 1.5 à 2 fois plus élevé chez la femme. De plus, les femmes atteintes de la MA ont tendance à démontrer une diminution plus sévère de leurs fonctions cognitives et plus particulièrement de la mémoire sémantique. Le cerveau fait partie des organes riches en récepteurs d'estrogène (ER) et il existe des évidences que l'estrogène jouerait un rôle dans la physiopathologie de la MA, particulièrement chez la femme. Le 11 β -Methoxy-(17 α ,20 Z/E)-[I-125/I-123]Iodovinylestradiol (MIVE) est un nouvel agent radiopharmaceutique développé pour l'imagerie des récepteurs de l'estrogène tumoraux chez les patientes atteintes d'un cancer du sein. Le but de cette étude était d'évaluer l'implication des ERs dans la captation cérébrale du [$^{125}\text{I}/^{123}\text{I}$]MIVE et d'évaluer le potentiel de cet agent radiopharmaceutique dans l'imagerie des récepteurs cérébraux de l'estrogène. **Méthodes :** le [^{125}I]MIVE a été administré par voie intraveineuse à un groupe de rats Fischer femelles ovariectomisés. Les animaux ont été sacrifiés à 15 min., 1 et deux heures post-injection. Le cerveau et les organes d'intérêt ont été retirés. Des coupes du cerveau de 200 μm dans le plan sagittal ont été effectuées et la distribution de la radioactivité dans ces coupes a été déterminée par autoradiographie digitale. Finalement, un exemple d'étude tomographique monophotonique (SPECT) cérébrale a été obtenu chez une femme en santé, après l'administration

intraveineuse de 5 mCi de [^{123}I]MIVE . **Résultats :** Chez le rat, la radioactivité est principalement concentrée au niveau du thalamus. Le cortex cérébral contenait très peu de radioactivité. La distribution des deux isomères 20E et 20Z du MIVE était similaire, toutefois l'isomère 20Z a tendance à être retenu plus longtemps dans le cerveau. La co-injection de l'estradiol non marqué (froid) a amené une diminution modeste de l'activité dans le thalamus 15 min post-injection (p.i.). Cette diminution est du même ordre de grandeur que celle observée au niveau de l'utérus (organe riche en récepteurs d'estrogène). Le temps de résidence dans le cerveau est court et, à deux heures p.i., plus de la moitié de la radioactivité est disparue du cerveau. La co-injection de l'estradiol non marqué à deux heures p.i. n'a amené aucune diminution significative de l'activité au niveau du thalamus. Chez l'humain, après l'administration du [^{123}I]MIVE, nous avons constaté une captation cérébrale initiale importante (maximale à 5 min. p.i.) suivie d'une clairance très rapide de l'agent.

Conclusion : L'étude faite chez le rat, quoique limitée, laisse entrevoir qu'une partie de l'activité du MIVE se lie aux récepteurs d'estrogène cérébraux. Cependant, une liaison non spécifique est aussi impliquée. La clairance cérébrale très rapide du MIVE observée chez l'humain indique que ce produit possède peu de potentiel pour l'imagerie des récepteurs d'estrogène cérébraux chez l'humain. Toutefois, cette étude préliminaire pourrait ouvrir la voie au développement de nouveaux agents plus spécifiques pour l'exploration scintigraphique des récepteurs estrogéniques cérébraux.

IS 11 β -METHOXY-(17 α ,20Z/E)-[I-123/125]IODOVINYLESTRADIOL (MIVE) BRAIN- UPTAKE ESTROGEN RECEPTOR MEDIATED?

J. Rousseau, O. Nachar, B. Lefebvre, R. Ouellet, E. Croteau, H. Ali and J.E. van Lier

Department of Nuclear Medicine and Radiobiology, Faculty of Medicine, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada J1H 5N4

Abstract: Radiolabeled 11 β -methoxy-(17 α ,20Z)-[¹²³I]iodovinylestradiol (MIVE) has been advanced as a SPECT radiopharmaceutical to quantify estrogen receptor (ER) densities in breast tumors. Recent studies in human subjects showed consistent uptake of MIVE by the brain. It is well known that ER are expressed in the brain and their involvement in physiopathological condition, such as Alzheimer's disease in women, is suspected. The aim of this study was to evaluate if MIVE brain uptake is ER-mediated, providing a radiopharmaceutical for scintigraphic mapping of ER expression in the brain. **Methods:** A group of ovariectomised adult female Fischer rats were injected iv with 30-60 μ Ci of [¹²⁵I]MIVE in the presence or absence of unlabeled estradiol. The animals were sacrificed at 15 min, one and two hours post-injection. The brain was removed, sliced at -25°C (200 μ m) in the transaxial axis and radioactivity was counted. An example of a brain SPECT study with a healthy female volunteers, following administration of 5 mCi of [¹²³I]MIVE, is also presented. **Results:** Rat brain radioactivity increased from the cortex to the base, with most of the radioactivity being found in the thalamus. The distribution pattern of the 20E- and the 20Z-isomers of MIVE is similar, with the 20Z-isomer yielding a higher and more prolonged brain uptake. Co-injection with unlabeled estradiol resulted in a slight drop in radioactivity in the thalamus at 15 min post-injection. At two hours post-injection brain activity had fallen by a factor >2 and co-injection with estradiol did not further affect the radioactivity level. Following administration of [¹²³I]MIVE to a volunteer, the

uptake of radioactivity in the brain was maximum at 5 min post-injection and decreased rapidly thereafter. **Conclusions:** In the rat brain uptake of MIVE seems partially ER-mediated. The modest effect of cold estradiol on brain retention is only noticeable early after administration of the radiopharmaceutical. Also the rapid tracer washout from human brain makes the involvement of specific ER uptake unlikely. The role of ER in the human brain in relation to pathological conditions such as Alzheimer's disease justify a continuing search for a radioligand that can visualize the expression of ER in the brain.

INTRODUCTION

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative affection characterized by a progressive loss of memory and other cognitive functions. It is the most common cause of dementia amongst the aged population, with a higher prevalence in women. Neuropathologic features that characterize AD include selective loss of neurons, accumulation of neurofibrillary tangles and amyloid plaques deposition containing β -amyloid (β A), an oligopeptide proteolytically derived from the larger amyloid precursor protein (APP) (1). Neurobiological and behavioral studies convincingly demonstrate that estrogen influences brain function (2,3). The effects of estrogen on the brain are not limited to reproduction regulation and sexual behavior, but is also required for proper brain development and function (4–6). Estrogens readily cross the blood-brain barrier, where they can interact both with nuclear estrogen receptors (ER) present in neuronal population from different regions and with membrane-bound receptors (7). Estrogens modulate the production of growth hormones, nerve growth factor (NGF) and brain-derived neurotrophic factor (BDNF), especially those associated with axonal elongation (8–11). Estrogens also enhance the outgrowth of nerve processes in cultured neurons (12,13) and promote the formation of dendritic spines and synapses (14–16). The physiologic relevance of some of these estrogen effects is suggested by enhanced long term potentiation, in parallel with increased synapse formation in the CA1 region of the hippocampus, during the proestrus phase (high-estrogen phase) of the rat estrous cycle (16,17). Furthermore, estrogen influences several neurotransmitter systems, including those using acetylcholine (17,18), norepinephrine (19), serotonin (20). Estrogen interactions with the cholinergic system is especially note worthy (17, 21). Cholinergic mechanisms are critically involved in attentional processes and memory, cognitive domains that are particularly affected by Alzheimer's disease (AD) (22,23). Estrogen stimulates the expression of NGF receptors on the cholinergic neurons and the expression of the

neurotrophic factors NGF and BDNF (8,9,11,24-26). These actions of the hormone provide unique mechanisms by which estrogens may facilitate the repair of neuron damaged by the processes associated with aging and AD.

Another potentially important mechanism of estrogen's improvement of cognitive function in women with AD is the effect of the hormone on cerebral blood flow and glucose utilization (27-30). In AD and other dementias, cerebral blood and glucose utilization are diminished in regions affected by the disease process (31-34). Moreover healthy postmenopausal women experience a greater atrophy and volume loss in the hippocampus and parietal lobe than men, as evidenced by magnetic resonance imaging (MRI) of the brain (34). Women also demonstrate a greater age-related decline in glucose metabolism in the hippocampus (35). In the absence of estrogen, glucopenia is toxic to brain cells, and this is particularly true within the hippocampus, where glucose transport is dependent on estrogen (36). One can hypothesize, therefore, that the decline in glucose metabolism, as observed by positron emission tomography (PET) with [^{18}F]fluorodeoxyglucose (FDG) within the hippocampus, may contribute to the accelerated loss of neurons within this region in women as compared to that in men.

In addition to estrogen-mediated increase in cerebral blood flow and glucose utilization, there is abundant evidence to support its repercussion on neuron protection and attenuation of neuronal injury related to its effect on the metabolism of the amyloid precursor protein (APP) and apolipoprotein E (Apo E). APP is expressed during neural injury and can be processed by two different pathways. One results in cleavage of the APP within the β -amyloid (βA) domain, leading to a soluble amino-terminal fragment. The second pathway cleaves the APP at the amino terminus of the β -amyloid, resulting in the amyloidogenic and neurotoxic peptide fragment of APP, the cell associated intact β -amyloid. Deposition of β -amyloid in brain parenchyma is a

distinctive feature of AD but also occurs to a lesser extent in normal aging. At physiologic concentration, 17β -estradiol increases the secretory metabolism of the soluble fragment of APP without increasing intracellular levels of APP, thus reducing the intracellular accumulation of the neurotoxic β A fragment (37-46). Estrogen also increases catabolism and reduces plasma levels of Apo E, a plasma lipoprotein associated with increased deposition of β A and increased numbers of neurofibrillary tangles. Therefore, the effect of estrogen on β A and Apo E provide another mechanism by which this hormone may attenuate neuronal injury (47-50).

Furthermore, estrogens also possess anti-inflammatory and antioxidant properties. These may be important in preventing neurotoxic effects of β A, which are showed to be mediated in part through the cytokine interleukin-6 and free radicals to susceptible neurons (39,51-55).

The burden of contracting AD falls more heavily on women than men. Moreover, women tend to show greater impairment in naming tasks and other measures of semantic memory (56-62). It is suggested that the postmenopausal estrogen deprivation may increase a woman's risk for developing AD and, conversely, that estrogen replacement therapy may reduce the risk for this disorder (27,39,63-65). Hence emphasis was made on the development of selective estrogen receptor modulators (SERMs) to protect cognitive function without increasing risk of cancer (68).

However not all women with AD will respond favorably to estrogen therapy and the effect often reaches a maximum after a year or two and then decreases. It has been established that both estrogen receptor (ER) subtypes are widely distributed in several brain regions, including the cortex (18,21). However, little is known about the status of the brain ER in aging and AD patient. [^{123}I]MIVE, a synthetic estrogen (Fig. 1) is known to bind to ER and to allow the scintigraphic imaging of ER in breast tumors. Recent studies at our hospital on [^{123}I]MIVE

breast uptake in patients and healthy volunteers (69,70) also showed weak uptake by the brain. The aim of the present paper is to investigate the involvement of ER in the brain uptake of MIVE and to evaluate the feasibility of using the radioiodine labeled MIVE to map animal brain estrogen receptor. A brain SPECT study with [^{123}I]MIVE in a healthy volunteer is also presented.

MATERIAL AND METHODS

Radiopharmaceutical synthesis

The (20E)- and (20Z)-isomers of 11 β -methoxy-(17 α ,20)-iodovinylestradiol (MIVE) were prepared from their corresponding isomeric precursors of 11 β -methoxy-(17 α ,20)-21-tributylstanylestradiol as previously described (69). [¹²⁵I]Iodine was used as the radiolabel for animal studies and the radiopharmaceuticals were prepared as a 10% ethanol physiological saline solution. For the human study [¹²³I] was substituted for the [¹²⁵I] and 20% Intralipid® was used for the formulation instead of saline. The content of the vial was transferred to a syringe and the activity was measured in a dose calibrator. All manipulation were done in a sterile hood using aseptic methods. Pyrogenicity testing was done with the limulus amoebocyte lysate technique LAL kit (Biowhittaker Inc., Walkersville, MD, U.S.A.).

Animal studies

The animal experiments were conducted in accordance with the recommendations of the Canadian Council on Animal Care and of the in-house Ethic Committee for animal experiments. Adult ovariectomised adult female Fischer rats (160 \pm 5 grams) were injected iv through the caudal vein, with Iodine-125 labeled (20E) or (20Z)MIVE. The animals were sacrificed under deep Halothane™ anesthesia, at 15 min, 1 h and 2 h pi. For each time interval a second rat was co-injected with 100 μ g of cold estradiol. The brains were processed in formol (9), before being embedded in gelatin, and cut at -25°C (200 μ m) in the transaxial axis. A picture of the brain slices was recorded in digital form using a flat bed scanner. Radioactivity in the slices was visualized with an Instant Imager electronic autoradiography system (Packard). Slices of selected anatomic sections from the experimental and estradiol co-injected groups were paired and compared for radioactivity distribution. Other organs of interest were also collected and processed in the usual manner.

Human study

An Internal Review Board approved the clinical protocol and the participant had signed an informed consent. The volunteer was a healthy women (aged 44 yrs, body weight 50 kg). Medical examination and questionnaire responses indicated that the subjected was healthy and non-pregnant. The subject received 150 mg of saturated iodine potassium (SSKI) solution 4 h before the administration of the tracer. The (20Z)-[^{123}I]MIVE (115 Mbq in 1.5 ml) was administrated iv through the brachial vein while the subject was resting on the imaging table.

Scintigraphic images were acquired using a double-head fixed gamma camera (GE Starcam 4000-i Optima) equipped with a high-resolution parallel-hole collimator (64 x 64 matrix size and 1.0 zoom). The windows of the camera were opened at 20% and adjusted at 159 keV for ^{123}I . Scintigraphy was performed 5 min following the injection. The acquisition was performed over 360° using a step- and shoot method (96 steps/16 sec). Images were reconstructed with standard filtered back-projection and were transferred to a Genie PNR model nuclear medicine dedicated computer (GE, Saint Albans, UK).

RESULTS

To allow comparison of brain radioactivity among the various experimental groups, ten standard brain slices (Fig. 2) ranging from the brain stem to the cortex, were selected. The brain distribution pattern was similar for both isomers, the radioactivity being concentrated in the thalamus area and decreasing as we move toward the cortex. Overall the 20Z-isomer gave higher and more sustained brain radioactivity, with maximum uptake at 15 min post-injection and decreasing thereafter (Fig. 3). At 15 min post-injection, the brain radioactivity of the animal injected with the 20Z-isomer, exceeded that of those injected with the 20E-isomer by 30%, at 1 h p.i. this difference reached 60%.

Co-injection of unlabeled estradiol resulted in lowered brain uptake at 15 min and 1 h p.i. by roughly 27% for both isomers, indicating receptor mediated binding, similar as that observed in the uterus (Fig. 4). At 2 h pi co-injection with estradiol did not lower the brain radioactivity. At 2 h pi the effect of estradiol co-injection upon uterus radioactivity uptake was also diminished, suggesting that the remaining activity is not ER bound. Among the non-target tissues most of the radioactivity was found in the liver followed by the kidneys, uterus, lungs, spleen and muscle. The non-target tissues were only slightly affected by the co-injection of unlabeled estradiol.

Biodistribution of (20Z)-[¹²³I]MIVE in the human subject was according to what we previously observed, the tracer is rapidly removed from the blood by the liver and excreted into the intestine (Fig. 5). Brain activity reaches a maximum within minutes following injection. The tomographic reconstruction of brain images shows activity in the area of the cortex and thalamus, which are known to contain ER (Fig. 6). The stability of the compound is evident from the absence of radioactivity at the level of the Choroid plexus which is a site of

accumulation of free iodine. No adverse reactions were noticed or reported by the subject following the administration of the radiopharmaceutical.

DISCUSSION

Estrogen profoundly affects neuronal function in those regions of the brain most sensitive to the neurodegenerative changes associated with AD. These effects include increased regional blood flow, increased glucose transport, reduction of the neurotoxic forms of β -amyloid and apolipoprotein E, which may protect brain function and attenuate neuronal injury (21,71). In addition, increased expression of neurotrophins, modulation of neurotransmitters such as acetylcholine and maintenance of synaptic density are among the actions of estrogen that would enhance neuronal repair. The majority of estrogen effects are mediated through ERs. The two ER subtypes ER α and ER β are widely expressed in various brain regions, including the basal forebrain, the hippocampus, and the cortex. It is, therefore, conceivable that a topographic distribution of ER expression in normal and pathologic state would be of diagnostic value. It has been previously established that both isomers of MIVE specifically bind to uterine ER in immature female Fischer rats (72). And recent clinical studies demonstrate the feasibility of using the 20Z-isomer of the ^{123}I -labeled analog for scintigraphic imaging of ER in breast tumors in patients (69,70). In view of the possible involvement of ER in brain pathologies such as Alzheimer disease, we decided to extend this study to the brain estrogen receptors. We have demonstrated that in the rat brain uptake occurs mostly in the thalamic area, which is known to be rich in ER. Our measurement of animal brain slice radioactivity with and without unlabeled estradiol indicates a significant decreased in ^{125}I -MIVE levels in the presence of the competitor. Since estradiol is known to compete with MIVE for ER binding sites, this effect substantiates that the brain uptake of at least part of the MIVE involves a specific interaction of the ligand with the ER.

Our observations in a healthy human volunteer who underwent SPECT indicate that brain activity peaks very rapidly after injection of the radiotracer and decreases promptly thereafter.

Thus in a clinical setting imaging must be carried out 2 min following administration of the radiopharmaceutical in rapid sequence SPECT using a triple headed camera. For ethical reasons our current protocol did not allow for co-injection of unlabeled estradiol to the human subject, which could have revealed specific receptor uptake mechanism. However, the rapid tracer washout makes specific ER uptake arguable and the brain activity could simply represent passive diffusion of a lipophilic compound through the blood-brain barrier. This discrepancy between the animal and human studies is not clear but two presumptions can be made. The first explanation could be that the brain uptake simply reflect blood flow, higher cerebral perfusion in human results in higher clearance of the tracer (73). The second explanation alludes to sex hormone binding globulin (SHBG) (74). Recent studies showed that SHBG interferes with steroidal hormone transit through the blood-brain barrier in mice. Knowing that SHBG are present in humans and absent in mice, this difference could explain the observed differences in MIVE pharmacokinetics between the two species (75).

CONCLUSION

If confirmed, this preliminary study opens up several interesting avenues for understanding the involvement of estrogens and ER in Alzheimer's and other degenerative diseases. For example, with the use of a more specific ER α and/or ER β ligand, scintigraphic mapping of brain estrogen receptors could be employed to predict the outcome of estrogen therapy in patients with AD. Individuals who demonstrate ER paucity in sensitive regions of the brain would be less likely to respond favorably to therapy. Moreover a possible relationship between the severity of dementia and brain ER density or distribution could be pursued. Finally a similar approach could be envisaged to image progestin receptors, using appropriate radiolabeled receptor ligand. Knowledge of the expression of progesterone receptors are important since this is an indication of the functionality of the ER (76).

BIBLIOGRAPHY

1. Selkoe DJ, Physiological production of the beta-amyloid protein and the mechanism of Alzheimer's disease. [Review] [73 refs] Trends in Neurosciences 16(10):403-9 (1993).
2. Sherwin BB, Can estrogen keep you smart? Evidence from clinical studies [Review], J Psy Neuroscience 24(4) :315-321 (1999).
3. Simpkins JW, Green PS, Gridley KE, Singh M, de Fiebre NE, Rajakumar G, Role of estrogen replacement therapy in memory enhancement and the prevention of neuronal loss associated with Alzheimer's disease. American Journal of Medicine, vol 103(3a) Supplement 19S-25S (1997).
4. Garcia-Segura LM, Chowen JA, Parducz A, Naftolin F, Gonadal hormones as promoters of structural synaptic plasticity: cellular mechanisms 44:279-307 (1994).
5. Breedlove SM, Sexual dimorphism in the vertebrate nervous system. J Neurosci 12:4133-4142 (1992).
6. Van Harren F, Van Hest A, Heinsbrock RPW, Behavioral differences between male and female rats: effects of gonadal hormones on learning and memory 14:23-33 (1988).
7. Kawata M, Roles of steroid hormones and their receptors in structural organization in the nervous system. [Review] [655 refs] Neuroscience Research 24(1):1-46 (1995).
8. Gibbs RB, Treatment with estrogen and progesterone affects relative levels of brain-derived neurotrophic factor mRNA and protein in different regions of the adult rat brain. Brain Research 844(1-2):20-27 (1999).
9. Singh M, Meyer EM, Simpkins JW, The effect of ovariectomy and estradiol replacement on brain-derived neurotrophic factor messenger ribonucleic acid expression in cortical and hippocampal brain regions of female Sprague-Dawley rats. Endocrinology 136(5):2320-4 (1995).
10. Shughrue PJ, Dorsa DM, Estrogen modulates the growth-associated protein GAP-43 (Neuromodulin) mRNA in the rat preoptic area and basal hypothalamus. Neuroendocrinology 57(3):439-47 (1993).
11. Hefti F, Hartikka J, Knusel B, Function of neurotrophic factors in the adult and aging brain and their possible use in the treatment of neurodegenerative diseases. [Review] [318 refs] Neurobiology of Aging 10(5):515-33 (1989).
12. Toran-Allerand CD, Organotypic culture of the developing cerebral cortex and hypothalamus: relevance to sexual differentiation. [Review] [96 refs] Psychoneuroendocrinology 16(1-3):7-24 (1991).

13. Ferreira A, Caceres A, Estrogen-enhanced neurite growth: evidence for a selective induction of Tau and stable microtubules. *Journal of Neuroscience* 11(2):392-400 (1991).
14. McEwen BS, Alves SH, Estrogen actions in the central nervous system, *Endocr Rev* 20:278-306 (1999).
15. Warren SG, Humphreys AG, Juraska JM, Greenough WT, LTP varies across the estrous cycle: enhanced synaptic plasticity in proestrus rats. *Brain Research* 703(1-2):26-30 (1995).
16. Woolley CS, McEwen BS, Roles of estradiol and progesterone in regulation of hippocampal dendritic spine density during the estrous cycle in the rat. *Journal of Comparative Neurology* 336(2):293-306 (1993).
17. Singh M, Meyer EM, Millard WJ, Simpkins JW, Ovarian steroid deprivation results in a reversible learning impairment and compromised cholinergic function in female Sprague-Dawley rats. *Brain Research* 644(2):305-12 (1994).
18. Toran-Allerand CD, Miranda RC, Bentham WD, Sohrabji F, Brown TJ, Hochberg RB, MacLusky NJ, Estrogen receptors colocalize with low-affinity nerve growth factor receptors in cholinergic neurons of the basal forebrain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89(10):4668-72 (1992).
19. Sar M, Stumpf WE, Central noradrenergic neurones concentrate 3H-oestradiol. *Nature* 289(5797):500-2 (1981).
20. Kendall DA, Stancel GM, Enna SJ, Imipramine: effect of ovarian steroids on modifications in serotonin receptor binding. *Science* 211(4487):1183-5 (1981).
21. McEwen BS, Clinical review 108: The molecular and neuroanatomical basis for estrogen effects in the central nervous system. [Review] [89refs] *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 84(6):1790-7 (1999).
22. Weiner MF, Alzheimer's disease: diagnostic and treatment. [Review]. *Harvard review of Psychiatry* 4(6):306-316 (1997).
23. Lawrence AD, Sahakian BJ, Alzheimer disease, attention, and the cholinergic system. *Alzheimer Disease & Associated Disorders* 9 Suppl 2:43-9 (1995).
24. Miranda RC, Sohrabji F, Toran-Allerand D, Interactions of estrogen with the neurotrophins and their receptors during neural development. [Review] [35 refs] *Hormones & Behavior* 28(4):367-75 (1994).
25. Sohrabji F, Miranda RC, Toran-Allerand CD, Estrogen differentially regulates estrogen and nerve growth factor receptor mRNAs in adult sensory neurons. *Journal of Neuroscience* 14(2):459-71 (1994).

26. Fischer W, Wictorin K, Bjorklund A, Williams LR, Varon S, Gage FH, Amelioration of cholinergic neuron atrophy and spatial memory impairment in aged rats by nerve growth factor. *Nature* 329(6134):65-8 (1987).
27. Birge SJ, Mortel KF, Estrogen and the treatment of Alzheimer's Disease *American Journal of Medicine* vol :103(2S) Supplement 36S-45S (1997).
28. Belfort MA, Saade GR, Snabes M, Dunn R, Moise KJ Jr, Cruz A, Young R, Hormonal status affects the reactivity of the cerebral vasculature. *American Journal of Obstetrics & Gynecology* 172(4 Pt 1):1273-8 (1995).
29. Manning CA, Ragozzino ME, Gold PE, Glucose enhancement of memory in patients with probable senile dementia of the Alzheimer's type. *Neurobiology of Aging* 14(6):523-8 (1993).
30. Funk JL, Mortel KKF, Meyer JS, Effects of estrogen replacement therapy on cerebral perfusion and cognition among postmenopausal women. *Dementia* 2:268-272 (1991).
31. Eberling JL, Jagust WJ, Reed BR, Baker MG, Reduced temporal lobe blood flow in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging* 13(4):483-91 (1992).
32. Heiss WD, Kessler J, Szekely B, Grond M, Fink G, Herholz K, Positron emission tomography in the differential diagnosis of organic dementias. [Review] [14 refs] *Journal of Neural Transmission. Supplementum* 33:13-9 (1991).
33. Gangar KF, Vyas S, Whitehead M, Crook D, Meire H, Campbell S, Pulsatility index in internal carotid artery in relation to transdermal oestradiol and time since menopause. *Lancet* 338(8771):839-42 (1991).
34. Williams JK, Adams MR, Klopfenstein HS, Estrogen modulates responses of atherosclerotic coronary arteries. *Circulation* 81(5):1680-7 (1990).
35. Grady CL, McIntosh AR, Bookstein F, Horwitz B, Rapoport SI, Haxby JV, Age-related changes in regional cerebral blood flow during working memory for faces. *Neuroimage* 8(4):409-25 (1998).
36. Bishop J, Simpkins JW, Estradiol enhances brain glucose uptake in ovariectomized rats. *Brain Research Bulletin* 36(3):315-20 (1995).
37. Koo EH, Lansbury PT Jr, Kelly JW, Amyloid diseases: abnormal protein aggregation in neurodegeneration. [Review] [21 refs] *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96(18):9989-90 (1999).
38. Armstrong RA, Beta-amyloid plaques: stages in life history or independent origin? [Review] [128 refs] *Dementia & Geriatric Cognitive Disorders* 9(4):227-38 (1998).

39. Inestrosa NC, Marzolo MP, Bonnefont AB, Cellular and molecular basis of estrogen neuroprotection. Potential relevance for Alzheimer's disease. *Mol Neurobiol* 17(1-7): 73-86 (1998).
40. Armstrong RA, Cairns NJ, Lantos PL, Beta-Amyloid (A beta) deposition in the medial temporal lobe of patients with dementia with Lewy bodies. *Neuroscience Letters* 227(3):193-6 (1997).
41. Armstrong RA, Wood L, Patial pattern analysis of beta-amyloid (A beta) deposits in Alzheimer disease by linear regression. *Alzheimer Disease & Associated Disorders* 10(1):40-5 (1996).
42. Armstrong RA, Beta-amyloid deposition in the medial temporal lobe in elderly non-demented brains and in Alzheimer's disease. *Dementia* 6(3):121-5 (1995).
43. Jaffe AB, Toran-Allerand CD, Greengard P, Gandy SE. Estrogen regulates metabolism of Alzheimer amyloid beta precursor protein. *Journal of Biological Chemistry* 269(18):13065-8 (1994).
44. Frucht SJ, Koo EH. Beta-Amyloid protein is higher in Alzheimer's disease brains: description of a quantitative biochemical assay. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 52(6):640-7 (1993).
45. Regland B, Gottfries CG, The role of amyloid beta-protein in Alzheimer's disease. [Review] [31 refs] *Lancet* 340(8817):467-9 (1992).
46. Sisodia SS, Koo EH, Beyreuther K, Unterbeck A, Price DL, Evidence that beta-amyloid protein in Alzheimer's disease is not derived by normal processing. *Science* 248(4954):492-5 (1990).
47. Scott BL, Welch K, deSerrano V, Moss NC, Roses AD, Strittmatter WJ, Human apolipoprotein E accelerates microtubule polymerization in vitro. *Neuroscience Letters* 245(2):105-8 (1998).
48. Polvikoski T, Sulkava R, Haltia M, Kainulainen K, Vuorio A, Verkkoniemi A, Niinisto L, Halonen P, Kontula K, Apolipoprotein E, dementia, and cortical deposition of beta-amyloid protein [see comments]. *New England Journal of Medicine* 333(19):1242-7 (1995).
49. Kushwaha RS, Foster DM, Barrett P, Carey KD, Bernard MG, Metabolic regulation of plasma apolipoprotein E by estrogen and progesterone in the baboon (*Papio* sp). *Metabolism: Clinical & Experimental* 40(1):93-100 (1991).
50. Applebaum-Bowden D, McLean P, Steinmetz A, Fontana D, Matthys C, Warnick GR, Cheung M, Albers JJ, Hazzard WR, Lipoprotein, apolipoprotein, and lipolytic enzyme changes following estrogen administration in postmenopausal women. *Journal of Lipid Research* 30(12):1895-906 (1989).

51. Sagara Y, Dargusch R, Klier FG, Schubert D, Behl C, Increased antioxidant enzyme activity in amyloid beta protein-resistant cells. *Journal of Neuroscience* 16(2):497-505 (1996).
52. Behl C, Davis JB, Lesley R, Schubert D, Hydrogen peroxide mediates amyloid beta protein toxicity. *Cell* 77(6):817-27 (1994).
53. Bauer J, Ganter U, Strauss S, Stadtmuller G, Frommberger U, Bauer H, Volk B, Berger M, The participation of interleukin-6 in the pathogenesis of Alzheimer's disease. [Review] [51 refs] *Research in Immunology* 143(6):650-7 (1992).
54. Vandenabeele P, Fiers W, Is amyloidogenesis during Alzheimer's disease due to an IL-1-/IL-6-mediated 'acute phase response' in the brain? [see comments]. [Review] [44 refs] *Immunology Today* 12(7):217-9 (1991).
55. Niki E, Nakano M, Estrogens as antioxidants. *Methods in Enzymology* 186:330-3 (1990).
56. Smith CA, McCleary CA, Murdock GA, Wilshire TW, Buckwalter DK, Bretsky P, Marmol L, Gorsuch RL, Buckwalter JG, Lifelong estrogen exposure and cognitive performance in elderly women. *Brain & Cognition* 39(3):203-18 (1999).
57. Payami H, Montee K, Grimslid H, Shattuc S, Kaye J, Increased risk of familial late-onset Alzheimer's disease in women [see comments]. *Neurology* 46(1):126-9 (1996).
58. Ripich DN, Petrill SA, Whitehouse PJ, Ziolo EW, Gender differences in language of AD patients: a longitudinal study. *Neurology* 45(2):299-302 (1995).
59. Henderson VW, Paganini-Hill A, Emanuel CK, Dunn ME, Buckwalter JG, Estrogen replacement therapy in older women. Comparisons between Alzheimer's disease cases and nondemented control subjects. *Archives of Neurology* 51(9):896-900 (1994).
60. Henderson VW, Buckwalter JG, Cognitive deficits of men and women with Alzheimer's disease. *Neurology* 44(1):90-6 (1994).
61. Buckwalter JG, Sobel E, Dunn ME, Diz MM, Henderson VW, Gender differences on a brief measure of cognitive functioning in Alzheimer's disease. *Archives of Neurology*. 50(7):757-60 (1993).
62. Jorm AF, Korten AE, Henderson AS, The prevalence of dementia: a quantitative integration of the literature [see comments]. [Review] [62 refs] *Acta Psychiatrica Scandinavica* 76(5):465-79 (1987).
63. Ohkura T, Isse K, Akazawa K et al, Long-term estrogen replacement therapy in female patients with dementia of the Alzheimer's type: 7 case reports. *Dementia* 6:99-107 (1995).
64. Honjo H, Ogino Y, Naitoh K, Urabe M, Kitawaki J, Yasuda J, Yamamoto T, Ishihara S, Okada H, Yonesawa T, Hayashi K, Nambara T, In vivo effects by estrone sulfate on the central nervous system: senile dementia (Alzheimer's type). *J Steroid Biochem* 34:521-525 (1989).

65. Fillit H, Weinreb H, Cholst I, Luine V, Mc Ewen B, Amador R, Zabriskie J, Observation in a preliminary open trial of estradiol therapy for senile dementia: Alzheimer's type. *Psychoneuroendocrinology* 11:337-345 (1986).
66. Kantor HI, Michael CM, Shore H, Estrogen for older women. *Am J Obstet Gynecol* 116:115-118 (1973).
67. Caldwell BM, An evaluation of psychological effects of sex hormone administration in aged women. *J Gerontol* 9:168-174 (1954).
68. McCormick WC, Abrass IB, Shifting thinking about memory impairment. *Lancet* 352 (suppl. IV): 6 (1998).
69. Nachar O, Rousseau J, Lefebvre B, Ouellet R, Ali H, van Lier JE, Biodistribution, dosimetry and metabolism of 11 β -methoxy-(17 α ,20E/Z)-[¹²³I]-iodovinylestradiol (MIVE) in healthy women and female breast cancer patients. *Journal of Nuclear Medicine* 40(10):1728-36 (1999).
70. Nachar O, Rousseau J, Lefebvre B, Ouellet R, Ali H, van Lier JE, Biodistribution, dosimetry and metabolism of 11 β -methoxy-(17 α ,20E/Z)-[¹²³I]-iodovinylestradiol (MIVE) in healthy women and female breast cancer patients. *J Nucl Med* 41(8) :1324-1331 (2000).
71. Resnick SM, Maki PM, Golski S, Kraut MA, Zonderman AB, Effect of estrogen replacement therapy on PET cerebral blood flow and neuropsychological performance *Horm Behav* 34:171-182 (1998).
72. Ali H, Rousseau J, Ghaffari MA, van Lier JE, Synthesis, receptor binding and tissue distribution of 7 α - and 11 β -substituted (17 α ,20E)- and (17 α ,20Z)-21-[¹²⁵I]iodovinyl-19-norpregna-1,3,5(10),20-tetraene-3,17-diols. *J Med Chem* 34: 854-860 (1991).
73. Jonson SD, Welch MJ, PET imaging of breast cancer with fluorine-18 radiolabeled estrogens and progestins. *Quarterly Journal of Nuclear Medicine* 42(1):8-17 (1998).
74. Yen SSC, Jaffe RB, eds. *Reproductive endocrinology: physiology, pathophysiology and clinical management*. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders (1991).
75. Hobbs CJ, Jones RE, Plymate SR, The effects of sex hormone binding globulin (SHBG) on testosterone transport into the cerebrospinal fluid. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 42(6):629-35 (1992).
76. Horwitz KB, McGuire WL, Predicting response to endocrine therapy in human breast cancer : a hypothesis. *Science* 189 :729-727 (1975).

LEGEND TO FIGURES

Figure 1. Structure of the (20E) and (20Z) isomers of [^{123}I]MIVE.

Figure 2. Standard transaxial rat brain slices (200 μm thick) selected to allow comparison of brain radioactivity distribution amongst experimental groups. Slices range from the base of the brain (A) to the cortex (J).

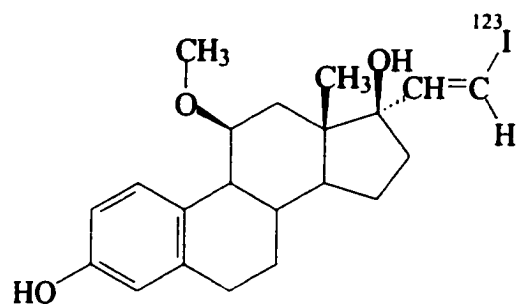
Figure 3. Rat brain slice radioactivity expressed in percent injected dose per gram of tissue (%ID/g) following iv administration of [^{123}I]MIVE. The letters on the x axis refer to the standard brain slices depicted in Figure 2.

Figure 4. [^{123}I]MIVE uptake in rat brain, in the absence (A) and in the presence of unlabeled estradiol (100 μg) (B). The slice corresponds to level E (Figure 2), the radioactivity distribution pattern was obtained on electronic autoradiography system.

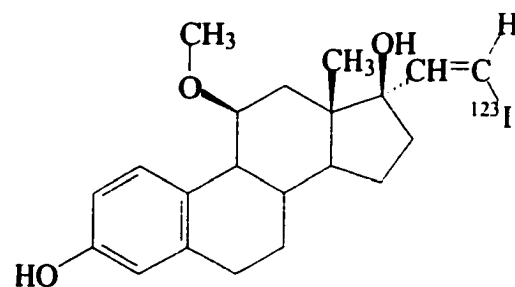
Figure 5. Anterior whole body scintigraphic image of a healthy women following intravenous administration of (20Z)-[^{123}I]MIVE.

Figure 6. SPECT images of the brain of a healthy women following intravenous administration of (20Z)-[^{123}I]MIVE. Mid brain (A) sagittal, (B) coronal and (C) transaxial reconstruction.

Figure 1



20 E (cis)



20Z (trans)

Figure 2

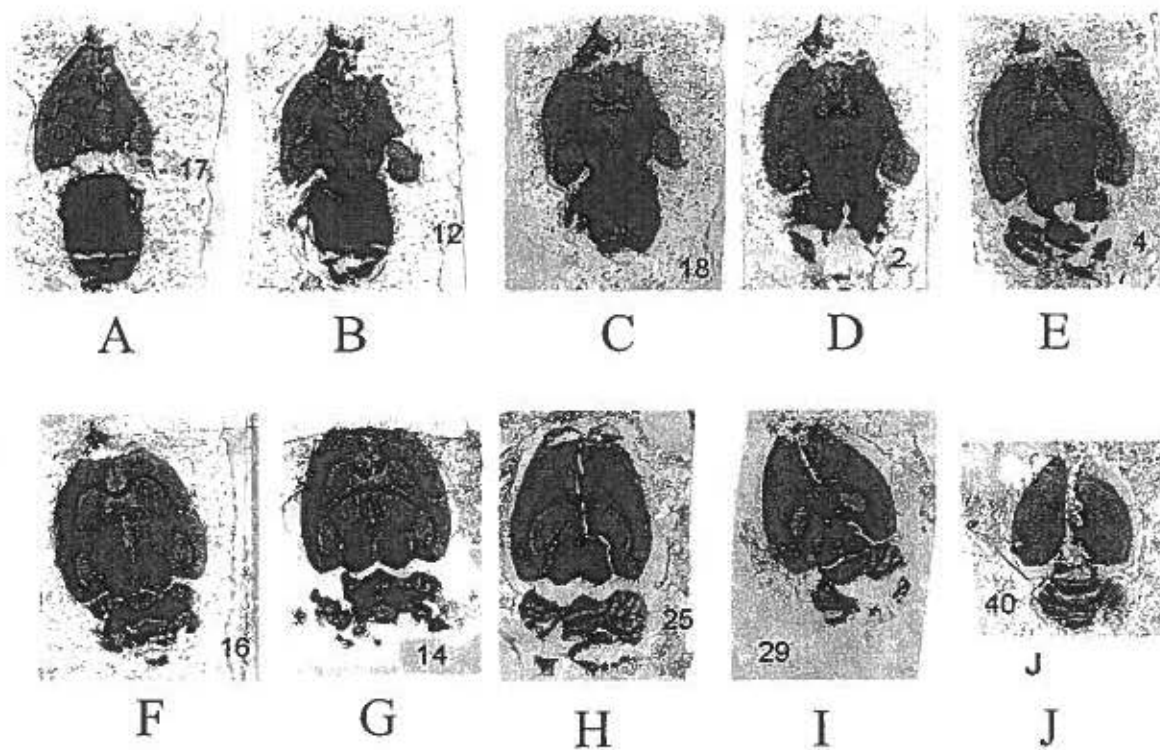


Figure 3

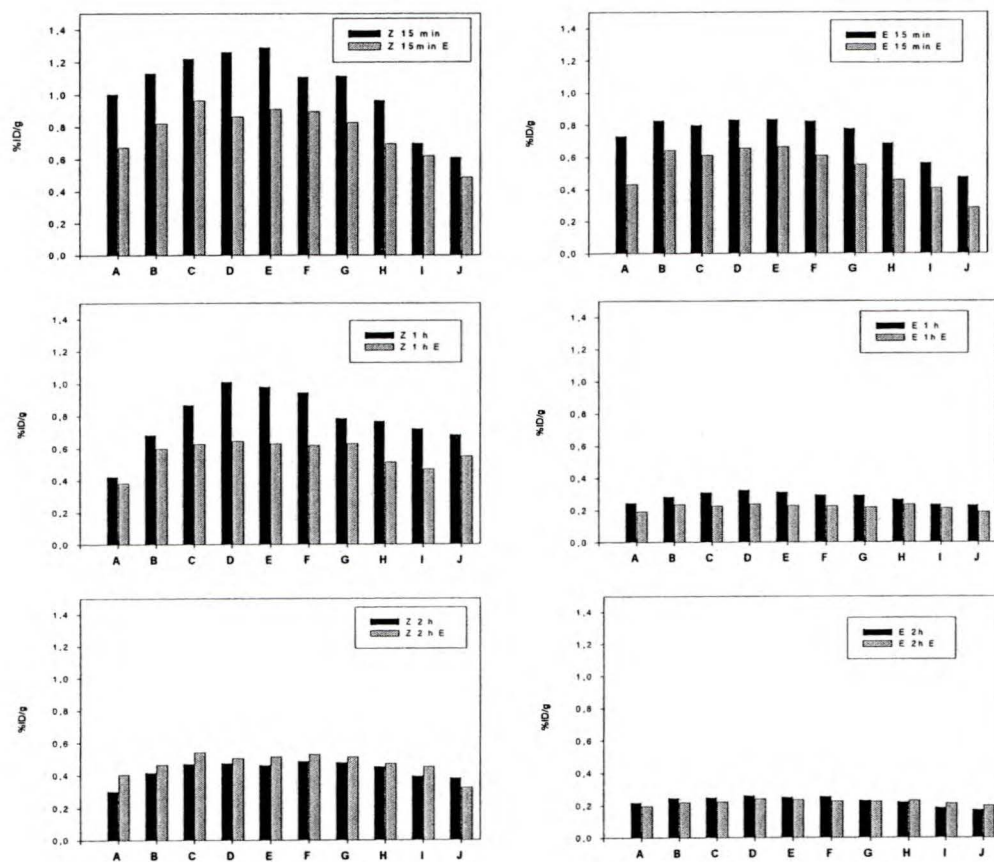


Figure 4

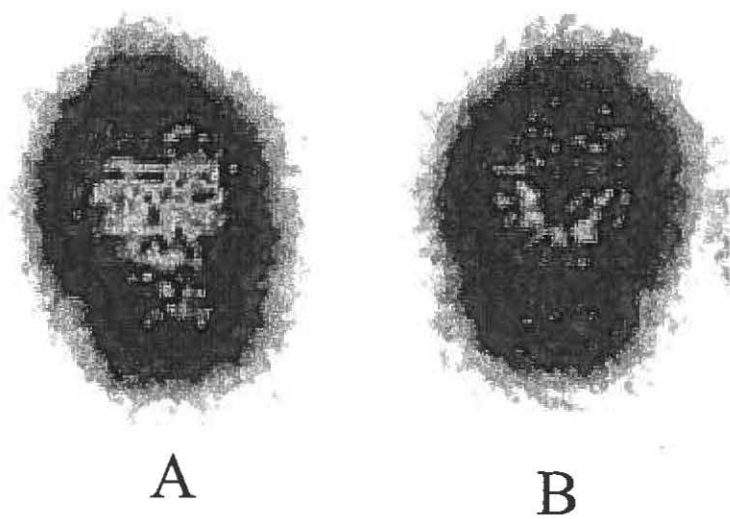


Figure 5



Figure 6



A



B



C

Discussion et conclusion

Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme dans les pays développés, et la deuxième cause de décès par cancer chez la femme. Au cours de la dernière décennie, son incidence croît de façon constante, tandis que le taux de mortalité reste stable, et les probabilités de développer une tumeur maligne du sein au cours de sa vie sont estimées maintenant à 1/9. Le cancer est d'origine multifactorielle, ce qui rend sa prévention difficile. La meilleure stratégie est de diminuer le taux de mortalité par une caractérisation et une détection précoce. La mammographie est actuellement la seule méthode disponible pour le dépistage. Cet examen présente malheureusement un nombre élevé de faux positif. L'arrivée de la résonance magnétique nucléaire (RMN) a contribué à améliorer la sensibilité mais pas la spécificité, et l'on retrouve encore plusieurs cas de faux positif. Dans le but d'améliorer la spécificité, des études en médecine nucléaire ont été effectuées avec des radiotraceurs, tels que le ^{99m}Tc -MDP, le thallium-201, le ^{99m}Tc -SESTAMIBI et, plus récemment, avec le ^{18}F -FDG TEP. Ces études montrent des résultats favorables.

Dans le cancer du sein, la mise en évidence et la caractérisation des récepteurs estrogéniques tumoraux, sont une étape importante dans le choix du traitement, l'établissement du pronostic et le suivi de la maladie. Actuellement, la détermination des récepteurs estrogéniques tumoraux se fait *in vitro* par une méthode immunohistochimique, à partir d'une biopsie. Cette méthode est susceptible aux variations inhérentes, à l'hétérogénéité de la distribution et de la fonctionnalité des récepteurs estrogéniques à l'intérieur d'une même tumeur. De plus, la biopsie ne nous renseigne pas sur les modifications que les récepteurs peuvent subir lors du prélèvement, et de la manipulation des spécimens, ni des changements au cours de l'évolution de la maladie. C'est sans doute à cause de ces limitations qu'un bon nombre de patientes, qui sont classées ER+ à la biopsie, ne répondent pas favorablement à la thérapie hormonale. Et pour les mêmes

raisons, il est vraisemblable que certaines patientes qui pourraient bénéficier de la thérapie hormonale soient classées ER-.

Une alternative à ces méthodes est l'utilisation des radiotraceurs ayant une grande affinité pour les récepteurs estrogéniques tumoraux. Déjà, certains analogues de l'estrogène ont été évalués en clinique. Parmi ceux-ci, le 16α -(^{18}F)-Fluoro- 17β estradiol (FES) a démontré une forte corrélation entre la présence de récepteurs estrogéniques tumoraux et l'accumulation de radioactivité dans la tumeur. Toutefois, le ^{18}F -(FES) est un radiotraceur destiné à l'imagerie topographique par émission de positron TEP, une technologie qui est encore peu disponible. Une alternative est l'utilisation de l'iode-123 comme marqueur. Ce radioélément possède les caractéristiques physiques qui en font un traceur adéquat pour l'imagerie par émission monophotonique planaire ou tomographique (SPECT).

La nature de l'halogène et son site de substitution peuvent avoir un effet majeur quant à l'affinité de liaison aux récepteurs, ainsi que sur les liaisons non spécifiques. Dans le but de trouver le meilleur candidat, l'index de sélectivité de liaison (BSI), défini comme le rapport de l'affinité de liaison relative au récepteur (RBA) sur les liaisons non spécifiques (NSB), est généralement un meilleur prédicteur de la performance d'un radiotraceur dans l'imagerie des ERs *in vivo*. Ces valeurs de RBA, BSI et NSB des différents dérivés estrogéniques sont normalisées à celles de la molécule de référence l'estradiol (E_2), qui sont par convention 100, 100 et 1 respectivement. Durant les dix dernières années, des efforts considérables ont été déployés afin d'optimiser ces paramètres. Mon laboratoire d'accueil s'intéressait depuis quelques années déjà au développement d'agents radiopharmaceutiques pour l'imagerie des récepteurs hormonaux. Les propriétés biologiques *in vitro* et chez l'animal de plusieurs composés étaient déjà bien documentées. Il a été noté que l'estradiol pouvait être iodé en 16α - ou par l'ajout d'un groupement Iodovinyl en 17α , sans qu'il y ait perte d'affinité pour les récepteurs estrogéniques. Différents analogues de ces molécules ont été

préparés dans le but d'augmenter l'affinité pour les récepteurs, tout en diminuant leur liaison non spécifique. Il avait été conclu, basé sur des études animales (rats), que les isomères E et Z du 11 β -Methoxy-(17 α ,20E/Z)-21-([¹²³I]-Iodovinyl)-estradiol (MIVE) étaient les plus qualifiés pour des essais cliniques chez l'humain. En effet, l'ajout d'un groupement vinyle à la position 17 alpha comme porteur de l'iode, confère une haute affinité pour ER, rend le complexe plus stable au niveau du lien iode, et diminue son métabolisme oxydatif, qui conduit à la formation du 11 β -Methoxy-(17 α ,20E/Z)-21-([¹²³I]-Iodovinyl)-estrone (MIVE1) qui possède une affinité moindre pour les ERs. L'ajout d'un groupe methoxy à la position 11 bêta a permis de diminuer les liaisons non-spécifiques en général et, plus particulièrement, il a induit une diminution de l'affinité de la molécule pour les protéines plasmatiques (Albumine et SHBG). De plus, cette substitution amène une diminution du métabolisme de ce composé, en interférant avec la 2-hydroxylation. Par conséquent, ces deux substitutions augmentent substantiellement le rapport cible/non-cible. La comparaison des deux isomères E et Z du MIVE chez l'animal a permis de démontrer que même si le Z-MIVE était stériquement moins stable, il possédait une plus grande affinité pour les ERs et présentait un temps de résidence plus long au niveau du ER que le E-MIVE. Il est important de rappeler qu'il existe une différence significative entre la pharmacocinétique des estrogènes chez l'animal et l'humain. La différence la plus notable est celle qui existe au niveau des protéines de transport, i.e.: alpha fétoprotéine chez la souris et SHBG chez l'humain. Afin d'évaluer les répercussions pharmacocinétiques de cette différence, une étude comparant le lapin (animal ayant des SHBGs) et la souris, a démontré une biodistribution similaire du MIVE chez les deux espèces animales (Nachar 1996, résultats non publiés). Néanmoins, seule une utilisation clinique pouvait permettre de connaître le véritable potentiel de ces produits pour l'imagerie des cancers ER+.

L'utilisation clinique place un certain nombre de restrictions sur la nature des dérivés d'estrogènes éligibles pour l'imagerie scintigraphique. Les produits

sélectionnés doivent évidemment être sécuritaires pour le patient et présenter une dosimétrie favorable. Puisque la préparation en soi ne contient que des traces de produit marqué et que le véhicule, l'Intralipide™, est un produit couramment utilisé en clinique pour l'alimentation parentérale, le principal risque était relié à la dose de radiations reçue par chaque organe. Dans le but d'estimer ces doses, une étude préliminaire de dosimétrie chez le rat a été effectuée. Cette estimation nous a permis d'extrapoler les résultats pour l'humain selon des transformations mathématiques (communication personnelle avec Stabin). Ce travail a démontré que la dosimétrie estimée par extrapolation est tout à fait acceptable pour entamer une étude chez l'humain. (Nachar, résultats non-publiés).

Le but ultime de notre première étude était d'établir l'existence d'une corrélation entre l'accumulation tumorale des isomères du MIVE₂ avec le taux de récepteurs estrogéniques tumoraux, tel que déterminé par biopsie. Ce travail se divise en deux parties. Au cours de la première partie, nous avons étudié la biodistribution et la dosimétrie des isomères (20E) et (20Z) du MIVE chez des volontaires saines. Le NaI[¹²³I] utilisé au cours de ce projet a été obtenu commercialement chez MDS Nordion Inc. (Vancouver, BC). Il est obtenu par bombardement d'une cible de xénon-124, d'une pureté radionucléique qui excède 99.8%. Le "E/Z" [¹²³I]-MIVE est préparé par halodestanylation à partir de son précurseur 11β-methoxy-(17α,20E/Z)-21-(tributylstanyl)-estradiol "E/Z" M(TBS)E. Cette méthode s'est avéré relativement rapide et efficace avec un rendement variant entre 60 et 80%. Le produit final possède une pureté radiochimique qui excède 95%. L'activité spécifique était de 2.43×10^5 Ci/mmol, cette valeur est nettement supérieure à celle décrite dans les études cliniques précédentes. Une grande activité spécifique est primordiale dans un système à faible capacité, tel que celui des ERs. Une valeur d'au moins 10^4 Ci/mmol est impérative. Un travail mené en France par l'équipe de Foulon et al. (91), où l'isomère (20E) du MIVE a été administré à des patientes atteintes du cancer du sein, n'a pas démontré des résultats favorables et ce, principalement à cause d'une très faible activité spécifique. Le "E/Z"[¹²³I]-MIVE se présente sous forme d'une solution stérile

dans de l'Intralipid™ 20% contenant 10% d'éthanol par volume. La majorité des études effectuées utilisait un mélange d'éthanol avec du salin physiologique dans l'injectat. Nous avons préféré, pour des raisons de sécurité et en tenant compte du caractère liposoluble du MIVE, utiliser une solution à base lipidique couramment administrée en clinique pour l'alimentation parentérale: Intralipides. Afin de s'assurer des propriétés biochimiques de la solution finale, des essais comparant les deux solutions ont été menés chez l'animal. Les résultats démontraient que l'utilisation de l'Intralipide dans l'injectat n'induisait aucune différence notable sur la biodistribution du produit (Nachar, résultats non-publiés).

La préparation contient moins de 1 picomole de "E/Z"[¹²³I]-MIVE et aucun agent bactériostatique. La stérilité du composé final a été confirmée par une culture, et un échantillon de chacun des lots de "E/Z"[¹²³I]-MIVE injectés a été conservé pour analyse ultérieure, si le besoin se présentait. Chaque préparation a été testée pour évaluer sa pyrogénicité (test de Limulus Amoebocyte Lysate : LAL). Dans chacun des cas, la quantité de pyrogènes détectable était nettement inférieure à la limite exigée pour l'utilisation clinique. Au début de l'étude, des doses faibles de l'ordre de 1 mCi ont été utilisées pour obtenir une première estimation des doses reçues par les différents organes, puis les doses ont été progressivement augmentées jusqu'à l'obtention d'images scintigraphiques de qualité diagnostique (3 à 5 mCi).

Nous avons donc démontré, lors de cette première partie, que les deux isomères (E) et (Z) du MIVE avaient une dosimétrie semblable et favorable pour l'utilisation chez l'humain. Les doses de radiation reçues suite à l'administration intraveineuse d'une dose diagnostique (5 mCi) se situaient dans les limites acceptées dans la pratique usuelle en médecine nucléaire. Ces molécules sont rapidement retirées du sang par le foie et excrétées par voie biliaire. L'analyse des images scintigraphiques indique que les deux isomères du MIVE ont une biodistribution similaire et que ces produits sont peu retenus dans la région

thoracique, ce qui favorise l'imagerie des tumeurs mammaires. Par contre, l'excrétion par voie intestinale empêche l'imagerie des ovaires, de l'utérus et de possibles métastases abdominales, telles que les métastases hépatiques. Le transit hépato-intestinal des deux isomères (Z) et (E) du MIVE prenait moins de 2 heures. Le séjour intestinal est par contre long, puisque la présence d'activité au niveau du colon a été démontrée jusqu'à 24 heures post-injection du radiotraceur. D'ailleurs, en terme de doses de radiations reçues, le colon est l'organe critique et la prise de produits laxatifs peut diminuer les doses reçues à ce niveau. Une étude scintigraphique dynamique (scintiphotos à séquences rapides) a montré que les reins sont visibles immédiatement après l'injection et qu'une partie de la radioactivité se retrouve dans l'urine. Une analyse de l'urine indique la présence d'iode libre, mais aussi du MIVE. Par contre, le premier prélèvement d'urine après l'injection de l'isomère (Z) du MIVE contenait plus de radioactivité comparativement à l'isomère (E). Chez les animaux, il a été démontré que le (Z) MIVE était plus facilement déiodé que le (E), et il nous est apparu logique de penser que la plus grande activité urinaire observée avec l'isomère (Z) reflétait sa déiodination; mais les analyses par HPLC révèlent que les proportions d'iode libre et de MIVE sont semblables pour les deux isomères. L'analyse de ces résultats nous a amené à la conclusion que l'isomère (Z) du MIVE est plus hydrosoluble que le (E) et, par conséquent, il est préférentiellement excrété par voies urinaires en phase précoce.

Une captation précoce et transitoire au niveau cérébral a aussi été observée pour ce produit. Il n'est présentement pas clair s'il s'agit d'une simple diffusion passive d'une molécule lipophile, tel que le MIVE, ou si une liaison spécifique aux récepteurs cérébraux de l'estrogène est en cause. Cela nous a inspirés pour étudier la distribution topographique des ERs cérébraux dans un modèle animal. Nous avons constaté, chez la souris, que le (20-Z)MIVE marqué à l'¹²⁵I permettait la visualisation des récepteurs cérébraux de l'estrogène. Cette fixation du (20-Z)[¹²⁵I]MIVE au niveau cérébral s'est avéré un processus impliquant, de façon partielle, les récepteurs estrogéniques. En effet, cela a été mis en évidence

par la diminution de la captation cérébrale du (20-Z)[¹²⁵I]MIVE en présence de l'estradiol froid. Cette diminution était du même ordre de grandeur que celle observée au niveau de l'utérus, organe très riche en récepteurs d'estrogène. Une étude SPECT préliminaire faite chez une volontaire saine indique l'accumulation du (20-Z)[¹²³I]MIVE au niveau du cerveau dans les minutes qui suivent son administration intraveineuse, mais la clairance cérébrale est très rapide, et le temps de résidence au niveau du cerveau est d'environ 5 à 6 minutes. Les raisons de la différence entre les résultats obtenus chez l'humain et le rat ne sont pas claires. Cependant, deux hypothèses sont possibles. La première hypothèse se base sur le haut débit sanguin cérébral. Le débit sanguin joue un rôle important et complexe sur l'extraction et la clairance d'un radiotraceur. En présence d'un haut débit, comme c'est le cas pour le cerveau humain qui reçoit environ 25% du débit cardiaque, l'apport du radiopharmaceutique est augmenté, mais le taux de clairance est élevé aussi. Plus particulièrement, pour le MIVE, une grande quantité est disponible pour interagir avec les ERs cérébraux, mais le haut débit diminue le temps d'interaction entre le MIVE et les récepteurs et induit, par le fait même, une clairance élevée (175). La seconde hypothèse impliquerait les SHBGs. En effet, des études animales ont démontré que les SHBGs retardaient le passage des hormones stéroïdiennes à travers la barrière hématoencéphalique chez le rat. Sachant que, contrairement à l'humain, le rat ne possède pas de SHBGs, cette hypothèse pourrait expliquer la différence entre les deux espèces dans la biodistribution et la pharmacocinétique cérébrale du MIVE (186).

La population choisie pour l'étude de la dosimétrie consistait en six femmes de poids et d'âges semblables. Il peut être argumenté qu'un groupe plus hétérogène aurait mieux reflété la population visée par ces produits. Mais nous désirions une population qui soit la plus conforme possible au modèle informatique utilisé pour le calcul de dose. Les résultats obtenus sont similaires aux valeurs décrites au cours d'une étude précédente portant sur une population plus hétérogène (187). La grande majorité des études dosimétriques a été basée sur un modèle d'homme standard de 70 kg. Pour des raisons évidentes et vu que seulement 1% des

cancers du sein sont diagnostiqués chez l'homme, nous avons préféré utiliser un nouveau fantôme, disponible sur le logiciel MIRDose, qui simule la femme adulte. Notre comparaison des deux modèles révèle que celui de l'homme standard sous-estime la dose reçue au niveau de l'organe critique, qui est le colon, et au niveau du système gastrointestinal en général. Pour cette raison et pour d'autres raisons évidentes, nous pensons que les études dosimétriques pour ce type de radiotraceur devraient utiliser le modèle féminin.

Comme avec tous les produits marqués à l'iode-123, il existe une possibilité pour qu'une partie de l'iode soit libéré de son porteur et soit capté par la thyroïde. Pour des raisons d'éthique, nous n'avons pas fait d'essais comparatifs des doses reçues par la thyroïde avec et sans mesure de protection (avec et sans ingestion préalable d'iodure de potassium). Mais, selon d'autres études dosimétriques avec d'autres produits marqués au radioiode, les doses de radiation déposées au niveau de la thyroïde peuvent être de 10 à 50 fois plus grande, si aucune mesure de protection n'a été prise. Par conséquent, il est nécessaire de protéger la thyroïde de la patiente avec l'équivalent d'une dose de 300 mg par jour d'iodure de potassium (SSKI ou Lugol), administrée par voie orale vingt quatre heures avant et après l'administration intraveineuse du MIVE. Dans notre expérience, une dose unique de 300 mg d'iodure de potassium s'est avéré aussi efficace si ingérée au moins une heure avant l'injection du produit iodé.

La concentration plasmatique des estrogènes varie selon le cycle menstruel chez la femme. Les concentrations les plus hautes se retrouvent en phase pré-ovulatoire, tandis qu'au début des menstruations, les estrogènes endogènes sont à leur niveau le plus bas. De surcroît, le nombre des récepteurs estrogéniques varie aussi dans le cycle; il peut doubler lors de la phase proliférative. Les isomères (E) et (Z) du MIVE ont été administrés à différents moments dans le cycle menstruel chez les volontaires saines et, pour chacune d'elles, les isomères (E) et (Z) ont été administrés au même moment, un mois plus tard. Nos observations n'ont montré aucune différence significative au niveau de la biodistribution des

produits. Il serait intéressant de comparer la biodistribution du MIVE dans le cycle menstruel chez la même volontaire. Cependant, pour des raisons de radioprotection et d'éthique, une telle étude serait difficilement justifiable.

Aucun effet indésirable n'a été rapporté suite à l'administration intraveineuse du MIVE. Il est à noter que ce produit est administré à des doses beaucoup trop faibles pour éliciter une réponse pharmacologique. Le principal risque étant, comme pour les autres produits radiopharmaceutiques, lié à la dose de radiation reçue par le patient. Aucune étude de toxicité n'a été effectuée dans le cadre de notre projet. Il serait intéressant d'évaluer l'impact qu'aurait l'administration du MIVE sur le système hématologique, ainsi que sur la fonction hépatique, puisque le foie est le principal organe impliqué dans le métabolisme des estrogènes en général et du MIVE en particulier. Une étude (174) a été conduite pour évaluer l'impact possible de l'administration du [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol sur le foie. Le taux des enzymes hépatiques: aspartate aminotransférase (AST), alanine aminotransférase (ALT), ainsi que celui de la bilirubine, a été mesuré chez 29 patientes ayant reçu par voie intraveineuse 1.2 à 4.3 mCi de [^{123}I]-16 α -Iodoestradiol. Aucun changement n'a été noté, sauf pour 3 patientes qui ont montré une élévation relative et transitoire des enzymes ALT, AST, qui est toutefois restée en dedans des valeurs normales.

Des études préliminaires (188), faites avec le (20-Z) MIVE chez le rat, indiquaient que le (20-Z) était très instable et qu'il était rapidement converti en (20-E), qui est thermodynamiquement plus stable. Pour s'assurer de la stabilité *in vivo* du "20Z" MIVE, des échantillons de plasma ont été prélevés chez des femmes injectées avec le (20-Z), à différents intervalles de temps et analysés par chromatographie sur couche mince. De plus, d'autres analyses chromatographiques d'extraits de plasma humain, dans lesquels nous avons incubé du "Z" [^{123}I]-MIVE₂ *in vitro* à 37° C, ont été réalisées. Nos résultats ne montraient aucune conversion isomérique de l'isomère (Z) vers l'isomère (E) du MIVE. Les raisons des différences entre nos résultats et ceux rapportés dans

l'étude précédente (188) ne sont pas tout à fait claires. Cependant, l'utilisation d'un système de chromatographie différent ou d'une pharmacocinétique distincte entre les espèces étudiées (plasma humain vs. rat) pourraient expliquer ce paradoxe.

Dans un deuxième temps, nous avons comparé l'accumulation du MIVE dans les tumeurs du sein avec leur contenu en récepteurs d'estrogènes, tel que déterminé par la biopsie de la tumeur. Puisque le nombre de patientes vues chaque année pour le cancer du sein dans notre établissement est limité et pour des raisons d'éthique évidentes, il nous était difficile de comparer les deux isomères du MIVE chez ces patientes. Nous avons donc choisi de n'évaluer que l'isomère (20Z) du MIVE. Notre choix a été motivé par plusieurs facteurs: nous avons évidemment tenu compte des propriétés biologiques plus avantageuses démontrées par l'isomère (Z) chez les animaux, mais nous avons aussi considéré les résultats de deux études préliminaires cliniques effectuées, l'une avec l'isomère (E) (91) et l'autre avec l'isomère (Z) du MIVE qui favorise l'emploi du (Z) (187). Treize patientes, dont 10 ayant une lésion cancéreuse, ont reçu le (20Z)-MIVE par voie intraveineuse. Le statut des lésions n'étant pas connu au moment de l'administration du traceur, c'est pour cette raison que certaines patientes ayant des lésions bénignes ont été incluses dans le groupe. Il était important de comparer la distribution du MIVE entre les lésions bénignes et malignes, puisque certaines pathologies bénignes, comme les adénomes et les maladies fibrokystiques, peuvent exprimer des récepteurs d'estrogènes qui pourraient résulter en de faux positifs. Dans notre étude, nous avons observé une différence marquée entre la distribution du MIVE dans les lésions bénignes et cancéreuses. Les tumeurs malignes ER+ apparaissent comme une captation focale bien définie du radiotraceur, tandis que chez les patientes présentant une lésion bénigne, on observe une distribution diffuse et relativement symétrique du MIVE.

Nous avons observé une bonne corrélation (80%) entre la captation tumorale du (20-Z) MIVE et la présence de récepteurs tumoraux pour l'estrogène, tel que

mesuré *in vitro*. Cette valeur est tout à fait comparable au taux de reproductibilité qui existe entre les laboratoires utilisant différents systèmes pour leurs essais immunoréactifs *in vitro* (189). Toutefois, deux patientes classées récepteur négatif *in vitro*, ont montré une accumulation focale de (20-Z) MIVE dans la tumeur. Il peut s'agir de faux positifs secondaires à des liaisons non spécifiques, à la présence d'inflammation locale importante, ou encore à l'hypervascularisation retrouvée dans la majorité des cancers. Cependant, la détermination des récepteurs estrogéniques tumoraux, faite *in vitro* à partir d'une biopsie, est une méthode susceptible aux erreurs d'échantillonnage, ainsi qu'aux variations inhérentes à l'hétérogénéité de la distribution et de la fonctionnalité des récepteurs estrogéniques, à l'intérieur d'une même tumeur. Il est donc légitime de penser qu'il pouvait aussi s'agir de tumeurs ayant réellement des récepteurs estrogéniques et que l'analyse *in vitro* n'ait pas permis de les détecter. Un certain nombre de faits cliniques supportent l'hypothèse que ces deux tumeurs possèdent en fait des récepteurs de l'estrogène. Chez la première patiente, les tests *in vitro* ont révélé la présence de récepteurs pour la progestérone (PR). Les tumeurs PR positives et ER négatives sont rares (rencontrées dans moins de 5% des cas) et sont associées à la présence d'une variante de ER manquant l'exon 5. De plus, la même patiente avait une tumeur de grande dimension avec un centre nécrotique. Cela aussi peut conduire à une fausse lecture, si l'échantillon en question contient du tissu nécrotique. La deuxième patiente avait des antécédents de cancer du sein ER positif; d'ailleurs, quelques mois après notre étude, cette même patiente a été traitée pour une nouvelle tumeur mammaire, dans le même sein, qui s'est révélé également ER positive. De surcroît, les essais immunoréactifs ne sont pas adaptés à la détection des variantes des ERs ni du sous-type ER bêta. Cela pourrait aussi être une source d'erreur, car les essais immunoréactifs utilisés sont seulement valables pour la détection des ER alpha. Par conséquent, la tumeur serait classée ER négative et la captation focale du MIVE serait le reflet de la distribution des ER bêta. Cette inconstance entre les tests *in vitro* et la scintigraphie au MIVE, où la tumeur démontre une captation du radioestrogène,

mais classée ER négative, a été rapportée dans d'autres études (89,90,169,171). Ces observations, quoique fragmentaires, laissent entrevoir un potentiel dans la prédiction de la réponse à la thérapie endocrinienne.

Une question pertinente serait de savoir si les deux patientes mentionnées ci-haut répondent ou non à la thérapie hormonale. En d'autres termes, le vrai test de référence (gold standard) devrait être la réponse éventuelle au traitement, et non pas la détermination des ERs in vitro.

Il serait fort intéressant de comparer, dans le cadre d'une étude prospective, la réponse à la thérapie hormonale, chez les patientes ayant un cancer du sein qui sont ER positives in vitro d'un côté, avec celles qui sont MIVE positives. Dans le même optique, on pourrait suivre les sous-groupes de patientes ayant une inconstance entre le MIVE et la détermination des ER in vitro (MIVE positif/ER négatifs in vitro et MIVE négatif/ER positifs in vitro) et déterminer leurs réponses respectives à la thérapie hormonale. Les résultats d'une telle étude nous permettrait de déterminer le test de référence (gold standard) optimale.

Dans une deuxième étude, nous nous sommes intéressés à la relation possible entre l'accumulation du MIBI technétie par les tumeurs cancéreuses et leur statut hormonal, tel que déterminé par la scintimammographie au MIVE. Les cancers du sein sont généralement diagnostiqués lors d'un examen physique ou d'une mammographie. Mais, il existe des situations où ces méthodes ne sont pas suffisantes pour poser un diagnostic avec un niveau de certitude acceptable. La mammographie a fait ses preuves comme méthode de dépistage du cancer du sein. Sa disponibilité, son coût peu élevé, le fait qu'elle soit relativement sécuritaire et qu'elle présente une bonne sensibilité, en ont fait l'outil de choix pour le dépistage du cancer du sein. Mais la mammographie a ses limites, certains types de tissus mammaires, particulièrement ceux qui sont très denses ou qui ont une densité hétérogène, peuvent masquer certaines anomalies. Dans

une étude effectuée en 1992 et qui portait sur 320 mammographies, 77 cas de faux négatifs ont été rapportés, 95% de ces tumeurs non diagnostiquées étaient chez des femmes présentant un tissu mammaire dense (190). Plusieurs autres facteurs peuvent affecter le tissu mammaire et rendre l'interprétation de la mammographie difficile, comme la chirurgie, la radiothérapie ou la présence d'implants mammaire. Dans ces cas, l'examen complémentaire de choix est la scintimammographie au ^{99m}Tc -méthoxyisobutylisonitrile (MIBI) afin de déterminer la nature maligne de l'anomalie. Le MIBI avait été développé à l'origine pour l'imagerie du cœur, mais on s'est rendu compte qu'il s'accumulait aussi dans les tumeurs cancéreuses. Le mécanisme de l'accumulation et de la rétention du MIBI dans les tumeurs n'est pas entièrement élucidé, mais les principaux facteurs seraient une forte densité de charge négative dans la tumeur et ses mitochondries, une activité métabolique intense et une hyperperfusion de la lésion. Selon diverses études cliniques, la sensibilité et la spécificité pour les lésions non-palpables sont de l'ordre de 55 et 89% respectivement; pour les lésions palpables, ses valeurs passent à 95 et 74% respectivement (190). Il ressort de ces études que, bien que le MIBI ne soit pas approprié pour le dépistage des tumeurs du sein, les patientes présentant des mammogrammes difficiles à interpréter, dû à un tissu mammaire trop dense ou très hétérogène, peuvent profiter de cette technique qui est indépendante de la densité du tissu mammaire.

Un certain nombre d'études indique que le MIBI se concentre en plus grande quantité dans les tumeurs agressives et peu différenciées, donc exprimant peu ou pas de récepteurs pour l'estrogène. En se basant sur cette hypothèse, on devrait observer une relation inverse entre la captation du MIBI dans la tumeur et celle du MIVE. Cette deuxième étude portait sur 13 patientes, choisies à la suite d'un examen physique ou d'une mammographie suspecte. Aucune accumulation focale du MIVE n'a été observée chez les patientes présentant une lésion bénigne. Parmi les patientes chez qui le cancer a été histologiquement confirmé, une bonne corrélation a été observée entre le statut ER et la captation

du MIVE, mais aucune relation statistiquement significative n'a été démontrée entre la concentration des ERs in vitro et le rapport tumeur sur tissu normal. La comparaison de l'accumulation du MIBI et du MIVE dans les différentes lésions n'a permis d'établir aucune corrélation statistiquement significative entre le degré de captation de ces deux produits. Cependant, le MIBI aurait tendance à se concentrer plus dans les tumeurs MIVE négatives que dans les tumeurs MIVE positives. Un plus grand nombre de patientes est requis afin de confirmer ou infirmer cette constatation. Une étude similaire par Dehdashti et al. (86), utilisant le fluorodéoxyglucose (FDG) comme agent tumoral non-spécifique et le FES pour l'imagerie sélective des ERs, est arrivé à des résultats analogues. Il ressort de ces études que l'imagerie scintigraphique des ERs, appliquée de façon conjointe avec des traceurs tumoraux non-spécifiques (FDG, MIBI), peut amener une information complémentaire et unique dans la caractérisation des tumeurs du sein.

Considérations cliniques et perspectives futures : L'expérience qui a été acquise au cours de ces deux études cliniques avec le MIVE, a permis d'établir certaines suggestions à suivre lors de l'utilisation clinique de ce produit. Il faut d'abord mentionner que des images de bonne qualité scintigraphique peuvent être obtenues avec une dose de 4 à 5 mCi et une acquisition de 10 minutes. Un collimateur du type basse énergie et haute résolution devrait être employé. Bien que ce composé soit rapidement éliminé de la région thoracique, il est préférable d'attendre deux heures avant d'effectuer la scintimammographie à ce niveau. De plus, des images peuvent être acquises jusqu'à 24 heures post-injection, mais au prix d'une perte de la qualité de l'image et d'une plus longue acquisition. Une étude tomographique par émission monophotonique (SPECT) est facultative, mais la scintimammographie doit être complétée par l'imagerie de la région axillaire. Finalement, la présence de captation hépatique et intestinale ne nuit pas à la visualisation des régions mammaires, mais elle exclut, par contre, la recherche de métastases hépatiques. Une façon de contourner cet obstacle, serait d'effectuer une scintigraphie hépato-splénique au soufre colloïdal et

chercher des zones focales d'inconsistance où le MIVE capterait, mais le soufre colloïdal présenterait un déficit focal de la captation.

Aussi, il est important de mentionner que le MIVE n'est pas un agent destiné au dépistage des tumeurs mammaires. En effet, ce produit et ses analogues ne sont pas spécifiques aux cancers et peuvent, dans de rares occasions, s'accumuler dans certaines lésions bénignes possédant des récepteurs de l'estrogène (171). De plus, seules les tumeurs ER positives vont accumuler ces agents; les tumeurs RE- ne seront donc pas détectées. Le rôle clinique du MIVE est donc de déterminer, de façon non-invasive, le statut hormonal de la tumeur mammaire chez des patientes ayant un cancer confirmé. Mais ce rôle peut facilement grandir et le MIVE pourrait avoir davantage d'indications. En effet, la scintimammographie (SMM) au MIVE est bien adaptée à la mise en évidence de l'état des ER au niveau des métastases, surtout si celles-ci sont multiples et difficilement accessibles par une biopsie. La SMM au MIVE présente aussi de nombreux avantages sur les méthodes *in vitro* pour l'évaluation de l'efficacité de la thérapie hormonale, tôt après l'initiation de celle-ci, surtout que le tiers des patientes souffrant du cancer d'un sein ER positif sont résistantes à la thérapie hormonale. Des scintigraphies sériées au MIVE pourraient aussi nous permettre de suivre l'évolution de la maladie. Plus précisément, chez les patientes présentant des anomalies au niveau de leur scintigraphie osseuse, le MIVE serait en mesure de clarifier davantage la situation et distinguer les anomalies bénignes du type dégénératif des métastases osseuses. De plus, la plupart des tumeurs qui répondent à la thérapie hormonale initialement, développent éventuellement une résistance. La SMM au MIVE possède les atouts nécessaires afin de devenir un outil important dans la détection précoce des cancers qui deviennent résistants à la thérapie hormonale.

Tel que mentionné précédemment, chez les patientes souffrant d'un cancer du sein ER positif, 35% sont résistantes à la thérapie hormonale, tandis qu'environ 10% des cancers ER négatifs répondent au traitement (191). Ces résultats

paradoxaux peuvent s'expliquer par plusieurs facteurs, dont l'hétérogénéité intra- et intertumorale des ERs, ainsi que l'efficacité sous-optimale des méthodes de détection des ERs in vitro. De surcroît, il est connu que la plupart des tumeurs qui répondent à la thérapie hormonale développent éventuellement une résistance. Les raisons précises à l'origine de la résistance à la thérapie hormonale sont encore méconnues. Cependant, plusieurs hypothèses ont été émises afin d'expliquer ce phénomène. Une des hypothèses était la perte des ERs ou de leurs fonctions. Mais, il a été démontré que plus de 50% des cancers résistants au tamoxifène conserve leurs récepteurs, d'où la présence d'autres mécanismes de résistance (192). Parmi ces mécanismes les plus plausibles, on retrouve 1) l'altération du métabolisme et de la pharmacologie du tamoxifène au niveau du foie et de la tumeur (193), 2) la synergie entre les voies de signalisation de la protéine kinase, et les ERs qui confèrent une activité agoniste partielle aux antiestrogènes occupant les ERs (60), 3) l'augmentation de la concentration locale des estrogènes, 4) la présence ou le développement de variantes des ERs (ERs manquant un ou plusieurs exons) (32-38) la présence des sous-types ER alpha et ER bêta, ainsi que 6) l'augmentation des sites de liaisons des antiestrogènes (SLAE) (193). La SMM au MIVE pourrait détecter précocement ces cas résistants et permettrait de choisir une thérapie alternative plus efficace. L'hypothèse de l'augmentation des sites de liaisons des antiestrogènes (SLAE) a suscité un intérêt considérable. En effet, il a été démontré que le tamoxifène se liait à des sites spécifiques autres que les ERs, appelés sites de liaisons des antiestrogènes (SLAE) ou sites de liaisons des antiestrogènes triphényléthylène (SLAT). L'expression de ces sites de liaison alternatifs est augmentée de façon substantielle au niveau des cellules tumorales (194-196). Il est bien établi qu'au niveau du sein, le tamoxifène inhibe la prolifération des cellules tumorales. Jusqu'à présent, on a toujours pensé que cet effet est surtout le résultat de la liaison du tamoxifène aux ERs. Cependant, la liaison du tamoxifène aux SLAEs aurait aussi une influence sur la croissance et la prolifération cellulaire (197,198). Par conséquent, il serait fort intéressant de développer des radiopharmaceutiques dérivés du tamoxifène ou d'un autre

MSRE pour l'imagerie scintigraphique des ERs, ainsi que pour déterminer la distribution et la densité des SLAEs chez les patientes atteintes du cancer du sein et, plus particulièrement, chez celles qui auraient développé une résistance à la thérapie hormonale.

Toujours dans les perspectives du futur, le développement d'un radiotracer sélectif pour chacun des sous-types ER alpha et ER bêta permettrait de caractériser mieux le statut de la tumeur en terme de densité relative des deux isoformes. Un tel radiopharmaceutique nous aiderait aussi à choisir le SERM le plus adapté à la patiente, selon que le ER alpha, ER bêta, ou les deux, seraient présents. Une autre application potentielle serait la sélection des patientes pour une prophylaxie aux SERMs. En effet, selon une étude récente, il faudrait traiter en prophylaxie 126 femmes au raloxifène pour éviter un cancer du sein, sans compter tous les effets secondaires et le coût que cela pourrait engendrer (11).

Finalement, on sait que le complexe ER-ligand se lie à un site spécifique sur l'ADN, cette liaison ouvre des portes sur un domaine fort prometteur, celui de la radiothérapie in situ. En effet, l'emploi d'un radionucléide à faible énergie émettant des électrons à petite portée (électron Auger) peut permettre le dépôt d'une dose localisée qui induirait des bris à double-brins au niveau de l'ADN (chirurgie moléculaire) et, par conséquent, causerait des dommages létaux et une toxicité sélective aux cellules tumorales possédant des ERs en quantité suffisante (199-201).

L'imagerie spécifique des récepteurs estrogéniques est un domaine en pleine effervescence. Les composés testés jusqu'à présent ne font qu'ouvrir la voie à d'autres dérivés ayant une meilleure affinité et une plus grande sélectivité pour les ERs. Ces molécules ne se limitent pas aux dérivés d'estrogène et au anti-estrogènes purs, mais peuvent couvrir tout le spectre intermédiaire des MSRE. Un point particulièrement intéressant à discuter est celui des liaisons du radiotracer aux SHBGs plasmatiques. On a toujours pensé que seule la forme

libre de l'estrogène se liait aux ERs et qu'une faible liaison aux SHBGs améliorerait le rapport de la captation de la tumeur sur celle de tissu avoisinant. Par conséquent, ce dernier critère était essentiel dans le processus de développement et de sélection des candidats potentiels pour l'imagerie des ERs chez l'humain. Cependant, de nouvelles évidences suggèrent que les SHBGs facilitent la captation de l'estrogène par les cellules ER positives, par l'intermédiaire d'un récepteur membranaire spécifique pour le SHBGs. D'autres études ont démontré que ces protéines (SHBGs) transportent la molécule d'estrogène à son récepteur en la protégeant contre le métabolisme enzymatique (202-204). L'émergence de ces nouvelles hypothèses nous poussent à réévaluer nos critères de conception lors du développement de nouveaux radiopharmaceutiques pour l'imagerie des récepteurs d'estrogène en clinique. Par conséquent, la prochaine génération de ligands aurait non seulement une grande affinité pour les ERs, mais également pour les SHBGs (178). Aussi, le développement de dérivés ayant une excrétion rénale et une plus faible excrétion entéro-hépathique permettrait de visualiser des pathologies hormonodépendantes, tels que le cancer de l'ovaire et de l'endomètre ainsi que leurs métastases. Une autre avenue serait le développement d'un radiotracer technétié (peptidique ou dérivé d'estrogène), possédant une haute affinité pour les récepteurs estrogéniques, ce qui nous permettrait d'avoir une meilleure résolution tout en diminuant l'exposition du patient aux radiations.

Finalement, pour que le MIVE puisse trouver sa place en clinique, il faut en simplifier la préparation. Actuellement, sa synthèse requiert une expertise et un équipement qui n'est généralement pas disponible dans les unités de médecine nucléaire conventionnelles. Un des prochains défis sera donc de développer des méthodes simples et rapides pour la préparation du MIVE, sous forme stérile et apyrogène, qui serait prête à l'utilisation clinique.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier vivement mon directeur de thèse, Dr Johan E. van Lier, pour son encadrement tout le long de mes travaux. Mes remerciements vont aussi à mon épouse Francine et mes deux enfants Layla et Ismael pour leur amour et leur support. Finalement, je suis particulièrement reconnaissant au Dr Jacques A. Rousseau qui m'a initié au laboratoire et en qui j'ai trouvé un ami loyal et un tuteur précieux.

Oussama Nachar

RÉFÉRENCES

1. Institut National du cancer du Canada, Statistiques canadiennes sur le cancer, Toronto, Ontario (1999).
2. Kelsey JL, Bernstein L, Epidemiology and Prevention of Breast Cancer, *Ann Rev Public Health* 17:47-67 (1996).
3. Groupe d'étude canadien sur l'examen médical périodique, Guide canadien de médecine clinique préventive, Ottawa, Ontario: Ministère des Travaux publics et Services gouvernementaux Canada (1994) [Numéro de catalogue H21-117/1994F].
4. Fisher B, Costantino JP, Wickerham DL, Redmond CK, Kavanah M, Cronin WM, et al, Tamoxifen for prevention of breast cancer: Report of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 study, *J Natl Cancer Inst* 90:1371-1388 (1998).
5. Easton DF, Bishop DT, Ford D, Crockford GP et al, Genetic linkage in familial breast and ovarian cancer: Results from 214 families, *Am J Hum Genet* 52:678-701 (1993).
6. Brody LC, Biesecker BB, Breast cancer susceptibility genes, BRCA1 and BRCA2, *Medicine* 77:208-226 (1998).
7. Kerlikowske K, Grady D, Rubin SM, Sandrock C, Ernest VL, Efficacy of screening mammography, *JAMA* 273:149-154 (1995).
8. Salmon D, Leyland-Jones B, Shak S, Paton V, et al, Addition of Herceptin (Humanized anti-HER2 antibody) to first line chemotherapy for HER2 overexpressing metastatic breast cancer markedly increases anticancer activity: A randomized multinational controlled phase III trials, *Proc Am Soc Clin Oncol* 17:98a (1998).
9. Rosen PP, Groshen S, Saigo PE, et al, Pathological prognostic factors in stage I (T1N0M0) and stage II (T1N1M0) breast carcinoma: A study of 644 patients with median follow-up of 18 years, *J Clin Oncol* 7:1239-1251 (1989).
10. Rosen PP, Groshen S, Kinne DW, Prognosis in T2N0M0 stage I breast carcinoma: A 20-year follow-up study, *J Clin Oncol* 9:1650-1661 (1991).
11. Cummings SR, Eckert S, Krueger KA, Grady D, Powles TJ, Cauley JA, Norton L, Nickelsen T, Bjarnason NH, Morrow M, Lippman ME, Black D, Glusman JE, Costa A, Jordan VC, The effect of raloxifene on risk of breast cancer in postmenopausal women: results from the MORE randomized trial. Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation *JAMA* 281(23):2189-2197 (1999).
12. Yen SSC, Jaffe RB, eds. Reproductive endocrinology: physiology, pathophysiology and clinical management. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders (1991).

13. Yager JD, Liehr JG, Molecular mechanisms of estrogen carcinogenesis. *Annu. Rev. Pharmacol Toxicol* 36:203-232.
14. Bradlow H. Leon, Davis Devra Lee, Lin Gong, Sepkovic Daniel, Tiwari Raj. Effects of pesticides on the ratio of 16 α /2-Hydroxyestrone : A biologic marker of breast cancer risk. *Environ Health Perspect* 103 (Suppl 7):147-150 (1995).
15. Liehr Joachim G. Genotoxic effects of estrogens. *Mutation Research* 238:269-276 (1990).
16. Webb P, Lopez GN, Uht RM, Kushner PJ, Tamoxifen activation of the estrogen receptor/AP-1 pathway: potential origin for the cell-specific estrogen-like effects of antiestrogens. *Molecular Endocrinology* 9(4):443-456 (1995).
17. Umayahara Y, Kawamori R, Watada H, Imano E, Iwama N, Morishima T, Yamasaki Y, Kajimoto Y, Kamada T, Estrogen regulation of the insulin-like growth factor I gene transcription involves an AP-1 enhancer. *Journal of Biological Chemistry* 269(23):16433-1642 (1994).
18. Rishi AK, Shao ZM, Baumann RG, Li XS, Sheikh MS, Kimura S, Bashirelahi N, Fontana JA, Estradiol regulation of the human retinoic acid receptor alpha gene in human breast carcinoma cells is mediated via an imperfect half-palindromic estrogen response element and Sp1 motifs. *Cancer Research* 55(21):4999-5006 (1995).
19. Porter W, Saville B, Hoivik D, Safe S, Functional synergy between the transcription factor Sp1 and the estrogen receptor. *Molecular Endocrinology* 11(11):1569-1580 (1997).
20. Yang NN, Venugopalan M, Hardikar S, Glasebrook A, Identification of an estrogen response élément activated by métabolites of 17beta-estradiol and raloxifene. *Science* 273(5279):1222-1225 (1996).
21. Yang NN, Bryant HU, Hardikar S, Sato M, Galvin RJ, Glasebrook AL, Termine JD, Estrogen and raloxifene stimulate transforming growth factor-beta 3 gene expression in rat bone: a potential mechanism for estrogen- or raloxifene-mediated bone maintenance. *Endocrinology* 137(5):2075-2084 (1996).
22. Montano MM, Jaiswal AK, Katzenellenbogen BS, Transcriptional regulation of the human quinone reductase gene by antiestrogen-liganded estrogen receptor-alpha and estrogen receptor-beta. *Journal of Biological Chemistry* 273(39):25443-25449 (1998).
23. Montano MM, Katzenellenbogen BS, The quinone reductase gene: a unique estrogen receptor-regulated gene that is activated by antiestrogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94(6):2581-2586 (1997).
24. Mendelsohn ME, Karas RH, The protective effects of estrogen on the cardiovascular system. *New England Journal of Medicine* 340(23):1801-1811 (1997).

25. Shibata H, Spencer TE, Onate SA, et al, Role of co-activators and co-repressors in the mechanism of steroid/thyroid receptor action. *Recent Prog Horm Res* 52:141-165 (1997).
26. Aronica SM, Katzenellenbogen BS, Stimulation of estrogen receptor-mediated transcription and alteration in the phosphorylation state of the rat uterine estrogen receptor by estrogen, cyclic adenosine monophosphate, and insulin-like growth factor-I. *Molecular Endocrinology* 7(6):743-752 (1993).
27. Ignar-Trowbridge DM, Teng CT, Ross KA, Parker MG, Korach KS, McLachlan JA, Peptide growth factors elicit estrogen receptor-dependent transcriptional activation of an estrogen-responsive element. *Molecular Endocrinology* 7(8):992-998 (1993).
28. Tzukerman MT, Esty A, Santiso-Mere D, Danielian P, Parker MG, Stein RB, Pike JW, McDonnell DP, Human estrogen receptor transactivational capacity is determined by both cellular and promoter context and mediated by two functionally distinct intramolecular regions. *Molecular Endocrinology* 8(1):21-30 (1994).
29. Berry M, Metzger D, Chambon P, Role of the activating domains of the estrogen receptor in the cell-type and promoter-context dependent agonistic activity of the anti-estrogen 4-hydroxytamoxifen. *EMBO J* 9:2811-2818 (1990).
30. McDonnell DP, Dana SL, Hoener PA, Lieberman BA, Imhof MO, Stein RB, Cellular mechanisms which distinguish between hormone- and antihormone-activated estrogen receptor. *Annals of the New York Academy of Sciences* 761:121-137 (1995).
31. Wilson TM, Norris JD, Wagner BL, Asplin I, Bear P, Brown HR, Lones SA, Henke B, Sauls H, Wolfe S, Morris DC, McDonnell DP, Dissection of the molecular mechanism of action of GW5638, a novel estrogen receptor ligand, provides insights into the role of estrogen receptor in bone. *Endocrinology* 138:3901-3911 (1997).
32. Fuqua SAW, Fitzgerald SD, Chamness GC, Tandon AK, McDonnell DP, Nawaz Z, O'Malley BW, McGuire WL, Variant human breast tumor estrogen receptor with constitutive transcriptional activity. *Cancer Res* 51:105-109 (1991).
33. Fuqua SAW, Fitzgerald SD, Allred DC, Elledge RM, Nawaz Z, McDonnell DP, O'Malley BW, Greene GL, McGuire WL, Inhibition of estrogen receptor action by a naturally occurring variant in human breast tumors. *Cancer Res* 52:483-486 (1992).
34. Wang Y, Miksicek RJ, Identification of a dominant negative form of the human estrogen receptor. *Mol Endocrinol* 5:1707-1715 (1991).
35. Miksicek RJ, Lei Y, Wang Y, Exon skipping gives rise to alternatively spliced forms of the estrogen receptor in breast tumor cells. *Breast Cancer Res Treat* 26:163-174 (1993).

36. Koehorst SG, Jacobs HM, Thijssen JH, Blankenstein MA, Wild type and alternatively spliced estrogen receptor messenger RNA in human meningioma tissue and MCF-7 breast cancer cells. *J Steroid Biochem Molec Biol* 45:227-233 (1993).
37. Pfeffer U, Fecarotta E, Castagnetta L, Vidali G, Estrogen receptor variant messenger RNA lacking exon 4 in estrogen responsive human breast cancer cell lines. *Cancer Res* 53:741-743 (1993).
38. Pfeffer U, Fecarotta E, Vidali G, Coexpression of multiple estrogen receptor variant messenger RNAs in normal and neoplastic breast tissues and in MCF-7 cells. *Cancer Res* 55: 2158-2165 (1995).
39. Garcia T, Lehrer S, Bloomer WD, Schachter B, A variant estrogen receptor messenger ribonucleic acid is associated with reduced levels of estrogen binding in human mammary tumors. *Mol Endocrinol* 2:785-791 (1988).
40. McGuire WL, Chamness GC, Fuqua SAW, Abnormal estrogen receptor in clinical breast cancer. *J Steroid Biochem Molec Biol* 43:243-247 (1992).
41. Murphy L, Dotzlaw H, Variant ER mRNA species detected in human breast cancer biopsy samples. *Mol Endocrinol* 3:687-693 (1989).
42. Dotzlaw H, Alkhalaf M, Murphy LC, Characterization of estrogen receptor variant mRNA from human breast cancer. *Mol Endocrinol* 6:773-785 (1992).
43. McGuire WL, Chamness GC, Fugua SAW, Estrogen receptor variants in clinical breast cancer. *Mol Endocrinol* 5:1571-1577 (1991).
44. Zhang QX, Borg A, Fuqua SAW, An exon 5 deletion variant of the estrogen receptor frequently coexpressed with wild-type estrogen receptor in human breast cancer. *Cancer Res* 53:5882-5884 (1993).
45. Hall JM, McDonnell DP, The estrogen receptor beta-isoform (ERbeta) of the human estrogen receptor modulates ERalpha transcriptional activity and is a key regulator of the cellular response to estrogens and antiestrogens. *Endocrinology* 140(12):5566-5578 (1999).
46. Kuiper GGJM, Enmark E, Peltö-Huikko M, Nilsson S, Gustafsson JA, Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:5925-30 (1996).
47. Kuiper GGJM, Carlsson B, Grandien K, et al, Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors (alpha) and (beta). *Endocrinology* 138:863-870 (1997).
48. Register TC, Adams MR, Coronary artery and cultured aortic smooth muscle cells express mRNA for both the classical estrogen receptor and the newly described estrogen receptor (beta). *J Steroid Biochem Mol Biol* 64:187-191 (1998).

49. Iafrafi MD, Karas RH, Aronovitz M, et al, Estrogen inhibits the vascular injury response in estrogen receptor (alpha)-deficient mice. *Nat Med* 3:545-8 (1997).
50. Lindner V, Kim SK, Karas RH, Kuiper GGJM, Gustafsson J-A, Mendelsohn ME, Increased expression of estrogen receptor (beta) mRNA in male blood vessels after vascular injury. *Circ Res* 83:224-291 (1998).
51. Dotzlaw H, Leygue E, Watson PH, Murphy LC, Expression of estrogen receptor-beta in human breast tumors. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 82(7):2371-2374 (1997).
52. Leygue E, Dotzlaw H, Lu B, Glor C, Watson PH, Murphy LC, Estrogen receptor beta: mine is longer than yours? [letter]. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 83(10):3754-3755 (1998).
53. Lu B, Leygue E, Dotzlaw H, Murphy LJ, Murphy LC, Watson PH, Estrogen receptor-beta mRNA variants in human and murine tissues. *Molecular & Cellular Endocrinology* 138(1-2):199-203 (1998).
54. Leygue E, Dotzlaw H, Watson PH, Murphy LC, Altered estrogen receptor alpha and beta messenger RNA expression during human breast tumorigenesis. *Cancer Research* 58(15):3197-3201 (1998).
55. Murphy LC, Dotzlaw H, Leygue E, Coutts A, Watson P, The pathophysiological role of estrogen receptor variants in human breast cancer. [Review] [39 refs] *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 65(1-6):175-180 (1998).
56. Murphy LC, Leygue E, Dotzlaw H, Douglas D, Coutts A, Watson PH, Oestrogen receptor variants and mutations in human breast cancer. [Review] [82 refs] *Annals of Medicine* 29(3):221-134 (1997).
57. Cowley SM, Hoare S, Mosselman S, Parker MG, Estrogen receptors (alpha) and (beta) form heterodimers on DNA. *J Biol Chem* 272:19858-19862 (1997).
58. Love RR, Mazess RB, Barden HS, Epstein S, Newcomb PA, Jordan VC, Carbone PP, DeMets DL, *New Engl J Med* 326:852-856 (1992).
59. Osborne CK, Coronado-Heinsohn EB, Hilsenbeck SG, McCue BL, Wakeling AE, McClelland RA, Manning DL, Nicholson RI, Comparison of the effects of a pure steroidal antiestrogen with those of tamoxifen in a model of human breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute* 87(10):746-750 (1995).
60. Fujimoto N, Katzenellenbogen BS, Alteration in the agonist/antagonist balance of antiestrogens by activation of protein kinase A signaling pathways in breast cancer cells:

- antiestrogen selectivity and promoter dependence. *Molecular Endocrinology* 8(3):296-304 (1994).
61. Vignon F, Bouton MM, Rochefort H, Antiestrogens inhibit the mitogenic effect of growth factors on breast cancer cells in the total absence of estrogens. *Biochemical & Biophysical Research Communications* 146(3):1502-1508 (1987).
 62. McDonnell DP, Clemm DL, Hermann T, Goldman ME, Pike JW, Analysis of estrogen receptor function in vitro reveals three distinct classes of antiestrogens. *Molecular Endocrinology* 9(6):659-669 (1995).
 63. Brzozowski AM, Pike ACW, Dauter Z, et al, Molecular basis of agonism and antagonism in the oestrogen receptor. *Nature* 389:753-758 (1997).
 64. McDonnell DP, Definition of the molecular mechanism of action of tissue-selective oestrogen-receptor modulators. *Biochem Soc Trans* 26:54-60 (1998).
 65. Paech K, Webb P, Kuiper GGJM, et al, Differential ligand activation of estrogen receptors ER(alpha) and ER(beta) at AP1 sites. *Science* 277:1508-1510 (1997).
 66. Amano S, Inoue T, Tomiyoshi K, Ando T, Endo K, In vivo comparison of PET and SPECT radiopharmaceuticals in detecting breast cancer, *J Nucl Med* 39:1424-1427 (1998).
 67. Maublant JC, Gachon P, Moins N, Hexakis(2-methoxy isobutylisonitrile) technetium-99m and thallium-201 chloride: uptake and release in cultured myocardial cells, *J Nucl Med* 29: 48-54 (1988).
 68. McCall D, Zimmer LJ, Katz AM, Kinetics of thallium exchange in cultured rat myocardial cells, *Circulation Research* 56:370-376 (1985).
 69. Takahashi T, Moriya E, Miyamoto Y, Kawakami K, Kubo H, Uchida T, The usefulness of ²⁰¹TlCl scintigraphy for the diagnosis of breast tumor, [Japanese] *Nippon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi - Nippon Acta Radiologica* 54:644-649 (1994).
 70. Cimitan M, Volpe R, Candiani E, Gusso G, Ruffo R, Borsatti E, Massarut S, Rossi C, Morassut S, Carbone A, The use of thallium-201 in the preoperative detection of breast cancer: An adjunct to mammography and ultrasonography, *Eur J Nucl Med* 22:1110-1117 (1995).
 71. Lee VW, Sax EJ, McAneny DB, Pollack S, Blanchard RA, Beazley RM, Kavanah M, Ward RJ, A complementary role for thallium-201 scintigraphy with mammography in the diagnosis of breast cancer, *J Nucl Med* 34:2095-2100 (1993).
 72. Tonami N, Diagnosis of tumor with thallium-201, [Japanese] *Kaku Igaku - Japan J Nucl Med* 30:449-455 (1993).

73. Hagenauer M, Silberstein EB, Detection of clinically occult axillary metastases from breast cancer during stress Tl-201 scintigraphy, *Clin Nucl Med* 16:520 (1991).
74. Sehweil AM, McKillop JH, Milroy R, Sayed MA, Ziada G, Banham SW, Davidson KG, Ragib A, Omar YT, Abdel-Dayem HM, ²⁰¹Tl scintigraphy in the staging of lung cancer, breast cancer and lymphoma, *Nucl Med Commun* 11:263-269 (1990).
75. Sluyser M, Hoefnagel CA, Breast carcinomas detected by thallium-201 scintigraphy, *Cancer Lett* 40:161-168 (1988).
76. Piccolo S, Lastoria S, Mainolfi C, Muto P, Bazzicalupo L, Salvatore M, Technetium-99m-methylene diphosphonate scintimammography to image primary breast cancer, *J Nucl Med* 36:718-724 (1995).
77. Kiat H, Maddahi J, Roy LT, Comparison of ^{99m}Tc-MIBI with ²⁰¹Tl imaging by planar and SPECT techniques for assessment of coronary disease, *Am Heart J* 117:1-11 (1989).
78. Muller ST, Guth-Tougelids B, Creutzig GH, Imaging of malignant tumors with ^{99m}Tc MIBI SPECT (abstract), *Eur J Nucl Med* 28:562 (1987).
79. Carvalho P, Chiu M, Kronaug J, Kawamura M, Jones A, Holman B, et al, Cellular distribution and analysis of ^{99m}Tc MIBI in isolated perfused rat hearts, *J Nucl Med* 33:1515-1521 (1992).
80. Del Vecchio S, Ciarmiello A, Pace L, Potena MI, et al, L,C Fractional retention of technetium-99m-sestamibi as an index of P-glycoprotein expression in untreated breast cancer patients, *J Nucl Med* 38:1348-1351 (1997).
81. Taillefer R, The role of ^{99m}Tc-sestamibi and other conventional radiopharmaceuticals in breast cancer diagnosis. [Review] [133 refs] *Semin Nucl Med* 29:16-40 (1999).
82. Coleman RE, PET in lung cancer, [Review] [65 refs] *J Nucl Med* 40:814-820 (1999).
83. Cook GJ, Fogelman I, Skeletal metastases from breast cancer: imaging with nuclear medicine, [Review] [61 refs] *Semin Nucl Med* 29:69-79 (1999).
84. Wagner HN Jr, A new look at breast cancer [editorial; comment], *J Nucl Med* 40:1009-1010 (1999).
85. Goldenberg DM, Nabi HA, Breast cancer imaging with radiolabeled antibodies, *Semin Nucl Med* 29:49-56 (1999).
86. Dehdashti F, Mortimer JE, Siegel BA, Griffeth LK, Bonasera TJ, Fusselman MJ, Detert DD, Cutter PD, Katzenellenbogen JA, Welch NIJ, Positron tomographic assessment of estrogen receptors in breast cancer: comparison with FDG-PET and in vitro receptor assays, *J Nucl Med* 36:1766-1774 (1995).

87. McGuire AH, Dehdashti F, Siegel BA, Lvss AP, Brodack JW, Mathias CJ, Mintun MA, Katzenellenbogen JA, Welch MJ, Positron tomographic assessment of 16α -[^{18}F]fluoro- 17β -estradiol uptake in metastatic breast carcinoma, *J Nucl Med* 32:1526-1531 (1991).
88. Mintun MA, Welch W J, Siegel BA, Mathais CJ, Brodack JW, McGuire AH, Katzenellenbogen J, Breast cancer: PET imaging of estrogen receptor, *Radiology* 169:45-48 (1988).
89. Preston DF, Spicer JA, Baranczuk RA, Fabian C, Allen A, Krishnan L, Jewell WR, Schifelbeim M, Robinson RG, Detection of breast cancer by estradiol (I-123 E₂), *J Nucl Med* 30:844 (1989).
90. Preston DF, Spicer JA, Baranczuk RA, Fabian C, Baxter KG, Martin NL, Robinson RG, Clinical results of breast cancer detection by imageable estradiol (I-123 E₂). *Eur J Nucl Med* 16:430 (1990).
91. Ribeiro-Barras MJ, Foulon C, Baulieu JL, Guilloteau D, Bougnoux P, Lansac J, Besnard JC, Estrogen receptor imaging with 17α -[^{123}I]iodovinyl-11 beta-methoxyestradiol (MIVE2)--Part II, Preliminary results in patients with breast carcinoma, *Int J Radiat Appl & Instrumen - Part B, Nucl Med & Biol* 19:263-267, (1992).
92. Counsell RE, Klausmeier WH, Radiotracer interactions with sex steroid hormone receptor proteins (Receptor mapping), In: *Principles of Radiopharmacology*, Vol II (Edited by Colombetti LG), CRC Press, Boca Raton, pp 59-91 (1979).
93. Eckelman WC, Reba RC, Labeled estrogens and analogues, In *Radiopharmaceuticals: Structure-Activity Relationships* (Edited by Spencer RP) Grune and Stratton, New York, pp 449-458 (1981).
94. Katzenellenbogen JA, The pharmacology of steroid radiopharmaceuticals: Specific and non-specific binding and uptake selectivity, In *Radiopharmaceuticals Chemistry and Pharmacology* (Edited by Nunn AD) Mareel Dekker, New York, pp 297-331 (1992).
95. Moresco RM, Casati R, Lucignani G, Carpinelli A, Schmidt K, Todde S, Colombo F, Fazio F, Systemic and cerebral kinetics of 16α [^{18}F]fluoro- 17β -estradiol: a ligand for the in vivo assessment of estrogen receptors binding parameters, *J Cereb Blood Flow Metab* 15:301-311 (1995).
96. Welch MJ, Perlmutter JS, McGuire AH, Mathias CJ, Brodack JW, Mintun MA, Katzenellenbogen JA, Uptake of fluorine-18 labeled sex hormones in mammalian brain: measured with F-18 ligands and PET, *J Nucl Med* 29:75-45 (1988).
97. Eckelman WC, Gibson RE, Rzeszutarski WJ, The design of receptor binding radiotracers, In *Principle of radiopharmacology*, (Edited by Colombetti LG) vol 1, Boca Raton Press, pp 251-273 (1979).

98. Katzenellenbogen JA, Carlson KE, Heiman DF, Lloyd JE, Receptor binding as a basis for radiopharmaceutical design, In: Radiopharmaceuticals: structure-activity relationships (Edited by Spencer RP) New York, Grune Stratton, pp 23-66 (1981).
99. Katzenellenbogen JA, Hsiung HM, Carlson KE, McGuire WL, Kraay RJ, Katzenellenbogen BS, Iodohexestrol II, Characterization of the binding and estrogenic activity of iodinated hexestrol derivatives, in vitro and in vivo, *Biochemistry* 14:1742-1749 (1975).
100. Katzenellenbogen JA, Senderoff SG, McElvany Jr KD, O'Brien HA, Welch MJ, 16α - [^{77}Br]bromoestradiol- 17β : a high specific activity, gamma-emitting tracer with uptake in rat uterus and induced mammary tumors, *J Nucl Med* 22:42-47 (1981).
101. McElvany KD, Katzenellenbogen JA, Shafer KE, Siegel BA, Senderoff SG, and Welch MJ, The Los Alamos Medical Radioisotope Group: 16α [^{77}Br]Bromoestradiol: Dosimetry and preliminary clinical studies, *J Nucl Med* 23:425-430 (1982).
102. Ghanadian R, Waters SL, Thakur ML, et al, Studies with radioactive iodine labelled estrogens as prostate scanning agents, *Int J Appl Radiat Isot* 26:343-346 (1975).
103. Thakur ML, Waters SL, Evaluation of a method for the preparation of high specific activity radioiodinated oestradiol, *Int J Appl Radiat Isot* 27:585-588 (1976).
104. Katzenellenbogen JA, Comparative binding affinities of estrogen derivatives, *Cancer Treat Rep* 62:1243-1249 (1978).
105. Katzenellenbogen JA, Johnson HJ, Myers HN, Photoaffinities labels for estrogen binding proteins of rat uterus, *Biochemistry* 12:4085-4092 (1973).
106. Hochberg RB, Iodine-125-labeled estradiol: a gamma emitting analog of estradiol that binds to the estrogen receptor, *Science* 205:1138-1140 (1979).
107. Tercero JC, Nelson JC, Chi E, et al, 16α -[^{125}I]- β -Estradiol compared with [^3H]- β -Estradiol as the tracer in estradiol receptor assay, *Clin Chem* 27:1915-1917 (1981).
108. Van NT, Fritsche HA, Trujillo JM, A micro-assay for estrogen receptor in breast tumour with use of ^{125}I -labeled estradiol, *Clin Chem* 28:1303-1308 (1982).
109. Duffy MJ, Assay of estradiol receptor in human breast carcinoma using the gamma emitting ligand 16α -[^{125}I]iodoestradiol, *J Steroid Biochem* 16:343-344 (1982).
110. McElvany RD, Carlson KE, Welch MJ, Senderoff SG, Katzenellenbogen JA, The Los Alamos Medical Radioisotope Group, In vivo comparison of 16α - [^{77}Br]bromoestradiol- 17β , and 16α -[^{125}I]iodoestradiol- 17β , *J Nucl Med* 23:420-424 (1982).

111. Gatley SJ, Shaughnessy WJ, Inhorn L, Lieberman LM, Studies with 17 β -(16 α -[¹²⁵I]iodo)estradiol, an estrogen receptor-binding radiopharmaceutical in rats bearing mammary tumors, *J Nucl Med* 22:459-464 (1981).
112. Symes EK, Coulson WF, Ralph DNL, The synthesis of 16 α -[¹³¹I]iodo-oestradiol and evaluation of its use as a radiotracer for estrogen receptor positive breast tumors, *J Steroid Biochem* 22:155-160 (1985).
113. Hochberg RB, MacLusky NJ, Chambers JT, et al, Concentration of [16 α -¹²⁵I]iodoestradiol in human ovarian tumors in vivo and correlation with estrogen receptor content, *Steroid* 46:775-788 (1985).
114. Cummin CH, Radiolabeled steroidal estrogens in cancer research, *Steroids* 58:245-259 (1993).
115. Mazaitis JK, Gibson RE, Komai T, Eckelman WC, Francis B, Reba RC, Radioiodinated estrogen derivatives, *J Nucl Med* 21:142-146 (1980).
116. Vaalburg W, Feenstra A, Wiegman T, et al, Carbon-11 labeled moxestrol and 17 α -methylestradiol as receptor binding radiopharmaceuticals, *J Label Comp Radiopharm* 18: 100-101 (1981).
117. Hanson RN, Seitz DE, Botarro JC, E-17 α -[¹²⁵I]iodovinylestradiol: an estrogen-receptor-seeking radiopharmaceutical, *J Nucl Med* 23:431 (1982).
118. Katzenellenbogen JA, Carlson KE, Heiman DF, Goswami R, Receptor-binding radiopharmaceuticals for imaging breast tumours: estrogen receptor interactions and selectivity of tissue uptake of halogenated estrogen analogs, *J Nucl Med* 21:550-558 (1980).
119. Napolitano E, Fiaschi R, Hanson RN, Structure activity relationships of estrogenic ligands: synthesis and evaluation of (17 α ,20E)- and (17 α ,20Z)-21-halo-19-norpregna-1,3,5(10),20-tetraene-2,17 β -diols, *J Med Chem* 34:2754-2759 (1991).
120. Ali H, Rousseau J, Ghaffari MA, van Lier JE, Synthesis, receptor binding and tissue distribution of (17 α ,20E)- and (17 α ,20Z)-21-[¹²⁵I]iodo-19-norpregna-1,3,5(10),20-tetraene-3,17 β -diol, *J Med Chem* 31:1946-1950 (1988).
121. Symes EK, Bishop PB, Coulson WF, Davies AG, 17 α -Z-[¹²³I]iodovinylestradiol and its 3-acetate: chemical synthesis and in vivo distribution studies in the rat: comparison of tissue accumulation and metabolic stability with 17 α E-[¹²⁵I]iodovinyl and 16 α -[¹²⁵I]iodoestradiols, *Biochem Pharmacol* 44:741-746 (1992).
122. Salmon J, Coussediere D, Cousty C, Raynaud JP, Pharmacokinetics and metabolism of moxestrol in animals (rat, dog, monkey), *J Steroid Biochem* 19:1223 (1983).

123. Fishman J, Role of 2-hydroxyestrone in estrogen metabolism, *J Clin Endocrinol Metab* 23: 207 (1963).
124. Ball P, Knuppen R, Catechol estrogens (2- and 4-hydroxyestrogens), Chemistry, biogenesis, metabolism, occurrence and physiological significance, *Acta Endocrinol [Suppl 2321 (Copenh)]* 93:1 (1980).
125. Okret S, Wrangé O, Nordenskjöld B, Silfverswärd C, Gustafsson JA, Estrogen receptors assay in human mammary carcinoma with the synthetic estrogen 11 β -methoxy-17 α -ethinyl-1,3,5(10)-estratriene-3,17 β -diol (R 2858) *Cancer Res* 38:3904-3909 (1978).
126. Raynaud JP, Martin PM, Bouton MM, Ojasoo T, 11 β -methoxy-1,3,5(10)-estratriene-3,17 β -diol (moxestrol), a tag for estrogen receptor binding sites in human tissues, *Cancer Res* 38: 3044-3050 (1978).
127. Zielinski JE, Yabuki H, Pahuja S, Larner JM, Hochberg RB, 16 α -[¹²⁵I]iodo-11 β -methoxy-17 β -estradiol: A radiochemical probe for estrogen-sensitive tissues, *Endocrinology* 119:130-139 (1986).
128. Zielinski JE, Larner JM, Hoffer PB, Hochberg RB, The synthesis of 11 β -methoxy-[16 α ¹²³I]iodoestradiol and its interaction with the estrogen receptor in vivo and in vitro, *J Nucl Med* 30:209-215 (1989).
129. Katzenellenbogen JA, McElvany KD, Senderoff SG, Carlson KE, Landvatter SW, Welch MJ, and the Los Alamos Medical radioisotope group: 16 α -[⁷⁷Br]Bromo-11 β -methoxyestradiol-17 β : A gamma emitting estrogen imaging agent with high uptake and retention by target organs, *J Nucl Med* 23:411-419 (1982).
130. Ali H, Rousseau J, Ghafari MA, van Lier JE, Synthesis, receptor binding, and tissue distribution of 7 α - and 11 β -substituted (17 α ,20E)- and (17 α ,20Z)-21[¹²³I]iodo-19-norpregna-1,3,5(10),20-tetraene-3,17-diols, *J Med Chem* 34:854-860 (1991).
131. Ali H, Rousseau J, van Lier JE, 17 α -Methyl and 11 β -ethoxy substitution of [¹²⁵I]-16 α -iodoestradiol: effect on estrogen receptor-mediated target-tissue uptake, *J Med Chem* 36: 264-271 (1993).
132. Guengerich PP, Metabolism of 17 α -ethynylestradiol in humans, *Life Science* 47:1981-1988 (1990).
133. Li JJ, Purdy RH, Appelman EH, Klicka JK, Li SA, Catechol formation of fluoro- and bromo-substituted estradiols by hamster liver microsomes: Evidence for dehalogenation, *Mol Pharmacol* 27:559-565 (1985).
134. Utne T, Jobson RB, Babson RD, The synthesis of 2- and 4-fluoroestradiol, *J Org Chem* 33:2469-2473 (1968).

135. Liehr JG, 2-Fluoroestradiol, separation of estrogenicity from carcinogenicity, *Mol Pharmacol* 23:278-281 (1983).
136. Longcope C, Rafkind I, Arunachalam T, Caspi E, Biological activities of 4-fluoroestrogen analogues, *J Steroid Biochem* 19:1325-1328 (1983).
137. Eakins MN, Palmer AJ, Waters SL, Studies in the rat with ^{18}F -4-fluoroestradiol and ^{18}F -4-fluoroestrone as potential prostate scanning agents: comparison with ^{125}I -2-Iodoestradiol and ^{125}I -2,4-Diiodoestradiol, *Int J Appl Rad and Isotopes* 30:695-700 (1979).
138. Ali H, Rousseau J, Gantchev TG, van Lier JE, 2- and 4-fluorinated 16α -[^{125}I]iodoestradiol derivatives: synthesis and effect on estrogen receptor binding and receptor mediated target tissue uptake, *J Med Chem* 36:4255-4263 (1993).
139. Ali H, van Lier JE, Synthesis and receptor binding affinity of 7a- and 17a-substituted 2- and 4-chloroestradiol derivatives, *J Chem Soc Perkin Trans 1*:2485-2491 (1991).
140. Ali H, Rousseau J, van Lier JE, Synthesis of A-ring fluorinated derivatives of (17 α ,20E/Z)-[^{125}I] iodovinylestradiols: effect on receptor binding and receptor-mediated target tissue uptake, *J Med Chem* 36:3061-3072 (1993).
141. Ali H, Rousseau J, van Lier JE, Synthesis, receptor binding and biodistribution of the GEM-21-chloro-21-iodovinylestradiol derivatives, *J Steroid Biochem Molec Biol* 46:613-622 (1993).
142. Ouellet R, Rousseau J, Brasseur N, van Lier JE, Diksic M, Westera G, Synthesis, receptor binding and target-tissue uptake of carbon-11 labeled carbamate derivative of estradiol and hexestrol, *J Med Chem* 27:509-513 (1984).
143. French AN, Napolitano E, van Brocklin HF, Hanson RN, Welch ML, Katzenellenbogen JA, Synthesis radiolabeling and tissue distribution of 11β -fluoroalkyl and 11β -fluoroalkoxy substituted estrogen: Target tissue uptake selectivity and determination of a homologous series of fluorine-18 estrogens, *Nucl Med Biol* 20:31-47 (1993).
144. Pomper MG, Van Brocklin H, Thieme AM, Thomas RD, Kiesewetter DO, Carlson KE, Mathias CJ, Welch MJ, Katzenellenbogen JA, 11β -methoxy-, 11β -ethyl- and 17α -ethynyl-substituted 16α -fluoroestradiols: Receptor-based imaging agents with enhanced uptake efficiency and selectivity, *J Med Chem* 33:3143-3155 (1990).
145. VanBrocklin HF, Carlson KE, Katzenellenbogen JA, Welch MJ, 16β -([^{18}F]fluoro)estrogens: systematic investigation of a new series of fluorine-18-labeled estrogens as potential imaging agents for estrogen receptor-positive breast tumors, *J Med Chem* 36:1619-1629 (1993).
146. VanBrocklin RF, Rocque PA, Lee HV, Carlson KE, Katzenellenbogen JA, Welch MJ, 16β -[^{18}F]fluoromoxestrol: a potent, metabolically stable positron emission tomography imaging agent for estrogen receptor positive human breast tumors, *Life Science* 53:811-819 (1993).

147. Kiesewetter DO, Kilbourn MR, Landvatter SW, Heiman DF, Katzenellenbogen JA, Welch MJ, Preparation of four fluorine-18 labeled estrogen and their selective uptake in target tissue of immature rats, *J Nucl Med* 25:1212-1221 (1984).
148. Welch MJ, Mathias MJ, Brodack JW, vanBrocklin HF, Katzenellenbogen JA, Tamoxifen therapy and in vivo determination of estrogen receptor concentration with ^{18}F -16 α -fluoroestradiol-17 β (FES), *J Nucl Med* 30:910 (1989).
149. Katzenellenbogen JA, Mathias CJ, VanBrocklin HF, Brodack JW, Welch MJ, Titration of the in vivo uptake of 16 α -["Fluoroestradiol by target tissues in the rat: competition by tamoxifen, and implications for quantitating estrogen receptors in vivo and the use of animal models in receptor binding radiopharmaceutical development, *Nucl Med Biol* 20:735-745 (1993).
150. VanBrocklin HF, Welch MJ, Brodack JW, Mathias CJ, Pomper MGI, Carlson KE, Katzenellenbogen JA, Fluorine-18 labeled estrogens: synthesis and biological evaluation of 11 β and 17 α substituted estradiols, *J Labelled Compd Radiopharm* 30:427-429 (1991).
151. VanBrocklin HF, Pomper MG, Carlson KE, Welch MJ, Katzenellenbogen JA, Preparation and evaluation of 17 α -ethynyl-substituted 16 α - ^{18}F]fluoroestradiols: selective receptor-based PET imaging agents, *Nucl Med Biol* 19:363-374 (1992).
152. Raynaud JP, Bouton MM, Gallet-Bourquin D, Philibert D, Toumenine C, Azadian-Boulanger G, Comparative study on estrogen action, *Mol Pharmacol* 9:520-533 (1973).
153. Ali H, Rousseau J, Ghaffari MA, van Lier JE, Synthesis and Target Tissue Uptake of the 20Z and 20E Isomers of 17 α -[^{125}I]Iodovinylestradiol, *J Label Compds Radiopharm* 26:102-103 (1989).
154. Jordan VC, Biochemical pharmacology of antiestrogen action. *Pharmacol Rev* 36:245-276 (1984).
155. DeSombre ER, Holt JA, Herbst AL, Steroid receptors in breast, uterine and ovarian malignancy: diagnostic and therapeutic applications. In: Gold JJ, Josimovich JB, eds. *Gynecological Endocrinology*. New York: Plenum Press 511-527 (1987).
156. Buckley MM-T, Goa KL, Tamoxifen: a reappraisal of its pharmacokinetics and pharmacodynamic properties, and therapeutic use. *Drugs* 37:451-490 (1989).
157. Nolvadex Adjuvant Trial Organization. Controlled trial of tamoxifen as a single adjuvant agent in the management of early breast cancer. *Br J Cancer* 57:608-611 (1988).
158. Morrow M, Jordan VC, Risk factors and the prevention of breast cancer with tamoxifen *Cancer Surv* 18:211-229 (1993).

159. Horwitz KB, McGuire WL, Nuclear mechanisms of estrogen action. Effects of estradiol and anti-estrogens on estrogen receptors and nuclear receptor processing. *J Biol Chem* 253:8185-8191 (1978).
160. Castellano-Diaz E, Gonzalez-Quijano MI, Liminana JM, Diaz-Chico BN, Tamoxifen decreases the estradiol induced progesterone receptors by interfering with nuclear estrogen receptor accumulation. *J Steroid Biochem* 33:133-139 (1989).
161. Kangas L, Review of the pharmacological properties of toremifene. *J Steroid Biochem* 36:191-195 (1990).
162. Gatley SJ, DeSombre ER, Hughes A, Pan ML, Teaster B, Comparison of steroidal and triphenylethylene-based iodovinylestrogens with regard to biodistribution and metabolism. *J Nucl Med* 30:924 (1989).
163. Gatley SJ, DeSombre ER, Mease RC, Seevers RE, Hughes A, Li J, Pan ML, Synthesis, purification and stability of no carrier added radioiodinated 1,1 -bis(4-hydroxyphenyl)-2-iodo-2-phenylethylene (IBHPE), a prototype triphenylethylene estrogen-receptor binding radiopharmaceutical. *Nucl Med Biol* 18:769-775 (1991).
164. Hughes A, Gatley SJ, DeSombre ER, Comparison of the distribution of radioiodinated-E-17alpha-iodovinyl- 11beta-methoxyestradiol and 2-iodo-1, 1-bis(4-hydroxyphenyl)-phenylethylene estrogens in the immature female rat. *J Nucl Med* 34:272-280 (1993).
165. DeSombre ER, Pribish J, Hughes A, Comparison of the distribution of radioiodinated di- and tri-hydroxyphenylethylene estrogens in the immature rat. *Nucl Med Biol* 22:679-687 (1995).
166. Yang DJ, Li C, Kuang L-R, Price JE, Buzdar AU, Tansey W, Cherif A, Gretzer M, Kim EE, Wallace S, Imaging, biodistribution and therapy potential of halogenated tamoxifen analogues. *Life Sci* 55:53-67 (1994).
167. Brandes SJ, Katzenellenbogen JA, Fundamental considerations in the design of fluorine-18 labeled progestins and androgens as imaging agents for receptor-positive tumors of the breast and prostate. [Review] [99 refs] *International Journal of Radiation Applications & Instrumentation - Part B, Nuclear Medicine & Biology* 15(1):53-67 (1988).
168. Symes EK, Coulson WF, Das R, Scurr JH, The synthesis of E-17 alpha-[131I]iodo-vinyl oestradiol and evaluation of its use as a radiotracer for oestrogen receptor positive breast tumours. *Journal of Steroid Biochemistry* 35(6):641-646 (1990).
169. Preston DF, Spicer JA, Baranczuk RA, Fabian C, Baxter KG, Martin NL, Jewell WR, Robinson RG, Clinical results of breast cancer detection by imageable estradiol (I-123 E₂). *J Nucl Med* 1990: (poster board 930); 31:937.

170. Schober O, Scheidhauer K, Jackisch C, Schicha H, Smolarz K, Bolte A, Reiners C, Hoffken K, Biersack HJ, Briele B, et al, Breast cancer imaging with radioiodinated oestradiol [letter]. *Lancet* 335(8704):1522 (1990).
171. Scheidhauer K, Muller S, Smolarz K, Brautigam P, Briele B, [Tumor scintigraphy using 123I-labeled estradiol in breast cancer--receptor scintigraphy]. [German title: Tumor-Szintigraphie mit 123J-markiertem Östradiol beim Mammakarzinom-Rezeptorszintigraphie.] *Nuklearmedizin* 30(3):84-99 (1991).
172. Scheidhauer K, Smorlaz K, Jackisch C, Scharl A, Göhring U, Schober O, Schicha H, In-Vivo receptor imaging using I-123-estradiol in breast cancer. R. Klapdor edition, Tumor associated antigens, oncogenes, receptors, cytokinines in tumor diagnosis and therapy at the beginning of the nineties. *Cancer of the breast – State and trends in diagnosis and therapy*, 1992 W. Zuckschwerdt Verlag Munchen, Bern, Wien, New York. pp 579-580.
173. Kenady DE, Pavlik EJ, Nelson K, van Nagell JR, Gallion H, DePriest PD, Ryo UY, Baranczuk RJ, Images of estrogen-receptor-positive breast tumors produced by estradiol labeled with iodine I 123 at 16 alpha. *Archives of Surgery* 128(12):1373-1381 (1993).
174. Jonson SD, Welch MJ, PET imaging of breast cancer with fluorine-18 radiolabeled estrogens and progestins. [Review] [61 refs] *Quarterly Journal of Nuclear Medicine* 42(1):8-17 (1998).
175. Dehdashti F, Flanagan FL, Mortimer JE, Katzenellenbogen JA, Welch MJ, Siegel BA, Positron emission tomographic assessment of "metabolic flare" to predict response of metastatic breast cancer to antiestrogen therapy. *European Journal of Nuclear Medicine* 26(1):51-56 (1999).
176. Mortimer JE, Dehdashti F, Siegel BA, Katzenellenbogen JA, Fracasso P, Welch MJ, Positron emission tomography with 2-[F-18]fluoro-2-deoxy-D-glucose and 16-alpha-[F-18]fluoro-17-beta-estradiol in breast cancer – correlation with estrogen receptor status and response to systemic therapy. *Clin Cancer Res* 2:933-939 (1996).
177. Jonson SD, Bonasera TA, Dehdashti F, Cristel ME, Katzenellenbogen JA, Welch J, Comparative breast tumor imaging and comparative in vivo metabolism of 16α-[¹⁸F]Fluoromoxestrol in isolated hepatocytes. *Nuclear medicine & Biology* 26:123-130 (1999).
178. Rijks LJ, Boer GJ, Endert E, de Bruin K, Janssen AG, van Royen EA, The Z-isomer of 11 beta-methoxy-17 alpha-[123I]iodovinylestradiol is a promising radioligand for estrogen receptor imaging in human breast cancer. *Nuclear Medicine & Biology* 24(1):65-75 (1997).
179. Shani J, Gazit A, Livshitz T, Biran S, Synthesis and receptor-binding binding affinity of fluorotamoxifen a possible estrogen-receptor imagin agent. *J Med Chem* 28:1504-1511 (1985).
180. Inoue T, Yang DJ, Oriuchi N, Wallace S, Buzdar A, Tansey W, Kim EE, Cherif A, Kuang

- L-R, Podoloff DA, Positron emission tomography with F-18 fluorotamoxifen in patients with breast cancer. *J Nucl Med* 37(Suppl):86P (1996).
181. Horwitz KB, McGuire WL, Estrogen control of progesterone receptor in human breast cancer. *J Biol Chem* 253:2223-2228 (1978).
 182. Castagnetta LA, Traina A, Liquori M, Marasa L, Amodio R, Di Falco M, Miele M, Rausa L, Carruba G, Quantitative image analysis of estrogen and progesterone receptors as a prognostic tool for selecting breast cancer patients for therapy. *Analytical & Quantitative Cytology & Histology* 21(1):59-62 (1999) Abstract.
 183. Dehdashti F, McGuire AH, van Brocklin HF, Siefel BA, Andriole DP, Griffeth LK, Pomper MG, Katzenellenbogen JA, Welch MJ, Assessment of 21-[18F]Fluoro-16 α -Ethyl-19-norprogesterone as a positron emitting radiopharmaceutical for the detection of progesterone receptors in human breast carcinoma. *J Nucl Med* 32:1532-1537 (1991).
 184. Rijks LJ, van den Bos JC, van Doremalen PA, Boer GJ, de Bruin K, Janssen AG, van Royen EA, New iodinated progestins as potential ligands for progesterone receptor imaging in breast cancer. Part 2: In vivo pharmacological characterization. *Nuclear Medicine & Biology* 25(8):791-798 (1998).
 185. Hobbs CJ, Jones RE, Plymate SR, The effect of sex hormone binding globulin (SHBG) on testosterone transport into the cerebrospinal fluid. *J Steroid Biochem & Mol Biol* 42(6):629-635 (1992).
 186. Rijks L, Sokole EB, Stabin MG, Debruin K, Janssen AGM, van Ruyen EA, Biodistribution and dosimetry of iodine-123 labeled Z-MIVE : an estrogen receptor radioligand for breast cancer imaging. *Eur J Nucl Med* 25:40-47 (1998).
 187. Huges A, Larson SM, Hanson RN, DeSombre ER, Uptake and interconversion of the Z and E isomers of 17 α -iodovinyl-11 β -methoxyestradiol in the immature female rat. *Steroid* 62:244-252 (1997).
 188. Scheidhauer K, Scharl A, Schischa H, Estrogen receptor scintigraphy. *Quarterly J of Nucl Med* 42:26-32 (1998).
 189. Bird RE, Wallace TW, Yankaskas BC, Analysis of cancer missed at screening mammography. *Radiology* 184:613-617 (1992).
 190. Manni A, Arafah B, Pearson OH, Estrogen and progesterone receptors in the prediction of response of breast cancer to endocrine therapy. *Cancer* 46(12 Suppl):2838-2841 (1980).
 191. Encarnacion CA, Ciocca DR, McGuire WL, Clark GM, Fuqua SA, Osborne CK, Measurement of steroid hormone receptors in breast cancer patients on tamoxifen. *Breast Cancer Research & Treatment* 26(3):237-246 (1993).

192. Osborne CK, Coronado E, Allred DC, Wiebe V, DeGregorio M, Acquired tamoxifen resistance: correlation with reduced breast tumor levels of tamoxifen and isomerization of trans-4-hydroxytamoxifen [see comments]. *Journal of the National Cancer Institute* 83(20):1477-1482 (1991).
193. Pavlik EJ, Nelson K, Srinivasan S, Powell DE, Kenady DE, DePriest PD, Gallion HH, van Nagell JR Jr, Resistance to tamoxifen with persisting sensitivity to estrogen: possible mediation by excessive antiestrogen binding site activity. *Cancer Research* 52(15):4106-4112 (1992).
194. Sutherland RL, Murphy LC, Foo MS, Green MD, Whybourne AM, Krozowski ZS, High affinity antioestrogen binding site distinct from the oestrogen receptor. *Nature* 288:273-275 (1980).
195. Kon OL, An antiestrogen-binding protein in human tissues. *J Biol Chem* 258:3173-3177 (1983).
196. Baum M, The role of endocrine therapy in primary breast cancer. *J Steroid Biochem* 36:187-189 (1990).
197. Sutherland RL, Watts CKW, Hall RE, Ruenitz P, Mechanisms of growth inhibition by nonsteroidal antioestrogens in human breast cancer cells. *J Steroid Biochem* 27:891-897 (1987).
198. Clark JH, Schrader WT, O'Malley BW, Mechanisms of action of steroid hormones. In: Wilson JD, Foster DW, eds. *Williams Textbook of Endocrinology*, 8th edition. Philadelphia: WB Saunders Company:73-75 (1992).
199. Beckmann MW, Scharl A, Rosinsky BJ, Holt JA, Breaks in DNA accompany estrogen-receptor-mediated cytotoxicity from 16 alpha-[125I]iodo-17 beta-estradiol. *Journal of Cancer Research & Clinical Oncology* 119(4):207-214 (1993).
200. DeSombre ER, Shafii B, Hanson RN, Kuivanen PC, Hughes A, Estrogen receptor-directed radiotoxicity with Auger electrons: specificity and mean lethal dose. *Cancer Research* 52(20):5752-5758 (1992).
201. Schomacker K, Fischer T, Bottcher B, Mraheel SA, Scharl A, Gabruk-Szostak B, Scheidhauer K, Gohring UJ, Meller-Rehbein B, Shukla SK, Schicha H, [Kinetics of receptor-mediated radiotoxicity of 16alpha-[125I]-iodostradiol-3,17beta]. [German] *Nuklearmedizin* 37(4):134-140 (1998).
202. Hryb DJ, Khan MS, Romas NA, Rosner W, The control of the interaction of sex hormone-binding globulin with its receptor by steroid hormones. *Journal of Biological Chemistry* 265(11):6048-6054 (1990).

203. Khan MS, Hryb DJ, Hashim GA, Romas NA, Rosner W, Delineation and synthesis of the membrane receptor-binding domain of sex hormone-binding globulin. *Journal of Biological Chemistry* 265(30):18362-5 (1990).
204. Tait JF, Tait SA, The effect of plasma protein binding on the metabolism of steroid hormones. *Journal of Endocrinology* 131(3):339-357 (1991).